



UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

Imaculada de Moraes Carvalho Ananias

**UTILIZAÇÃO DE ALHO (*ALLIUM SATIVUM*) NA DIETA NA LARVICULTURA DE
TILÁPIAS DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)**

Diamantina

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

Imaculada de Moraes Carvalho Ananias

**UTILIZAÇÃO DE ALHO (*ALLIUM SATIVUM*) NA DIETA NA LARVICULTURA DE
TILÁPIAS DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)**

Diamantina

2020

Imaculada de Moraes Carvalho Ananias

**UTILIZAÇÃO DE ALHO (*ALLIUM SATIVUM*) NA DIETA NA
LARVICULTURA DE TILÁPIAS DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Marcelo Mattos Pedreira

Diamantina

2020

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A533u Ananias, Imaculada de Moraes Carvalho
Utilização de alho (*Allium sativum*) na dieta na larvicultura de
tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*) / Imaculada de Moraes Carvalho
Ananias, 2021.
72 p.: il.

Orientador: Marcelo Mattos Pedreira

Dissertação (Mestrado– Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
– Produção Animal) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha
e Mucuri, Diamantina, 2021.

1. Alevinagem. 2. Hematologia e histologia. 3. Larvicultura. 4.
Promotor de crescimento. 5. Sistema imunológico. I. Pedreira, Marcelo
Mattos. II. Título. III. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha
e Mucuri.

CDD 639.311

Ficha Catalográfica – Sistema de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecária: Viviane Pedrosa – CRB6/2641



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

IMACULADA DE MORAIS CARVALHO ANANIAS

UTILIZAÇÃO DE ALHO (*ALLIUM SATIVUM*) NA DIETA NA LARVICULTURA DE
TILÁPIAS DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, nível de Mestrado, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Orientador: Prof. Marcelo Mattos Pedreira

Data de aprovação 18/12/2020.

Prof.^a SANDRA REGINA FREITAS PINHEIRO - (UFVJM)

Dr.^a MARIANNE SCHORER - (UESC)

Prof. THIAGO BERNARDES FERNANDES JORGE - (UFRRJ)

Prof. MARCELO MATTOS PEDREIRA - (UFVJM)



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Mattos Pedreira, Servidor**, em 22/12/2020, às 17:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Bernardes Fernandes Jorge, Usuário Externo**, em 22/12/2020, às 18:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sandra Regina Freitas Pinheiro, Servidor**, em 23/12/2020, às 08:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **MARIANNE SCHORER, Usuário Externo**, em 23/02/2021, às 17:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufvjm.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0249847** e o código CRC **D39673D0**.

À Deus, nada eu seria sem sua infinita bondade.

Ao meu pai Julio, meu maior incentivador.

Às memórias de minha avó Eulza e tia Hélida,
meus exemplos de força e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, pelo dom da vida e por ter me dado coragem e forças durante essa caminhada.

Aos meus pais Julio Ananias Neto e Euziane de Moraes Carvalho Ananias pelo amor, paciência e confiança, mesmo com todas as dificuldades não mediram esforços para me apoiarem. Amo vocês!

Ao meu irmão Emanuel, pelo companheirismo e parceria de sempre, você é e sempre será a maior motivação e combustível para enfrentar os dias frios e difíceis e a certeza de que sempre vou encontrar em você o melhor abraço do mundo.

À memória das mulheres que cada uma a sua maneira me ensinaram o significado das palavras forças, resiliência, dedicação, amor e fé, Vó Eulza, Vó Lourdes, Tia Gê, Tia Héliida e bisas Laura e Pituca e do melhor avô que alguém poderia ter dono do sorriso mais receptível e pessoa mais humana que poderia existir, Vó Josa. A vocês toda gratidão por terem feito parte da minha vida, sei que estão em algum lugar melhor que este, carregando comigo além da saudade, a certeza do reencontro!

As minhas tias, primos, primas, madrinha e afilhada, pela paciência e companheirismo, por entenderem a minha ausência e distância em muitos momentos.

Minha eterna gratidão aos meus amigos irmãos, Mariana Tirelli, Caroline Lopes, Lara Tirelli, Rayssa Carvalho, Laís Alvarenga e Hélio Júnior (Toru), obrigada por estarem presentes em todos os momentos, durante os erros e os acertos, pelos conselhos e conversas madrugada adentro.

A todos meus amigos, pelas madrugadas de estudos e conversas a fio, companhia, apoio, e principalmente terem tornado esse caminho mais leve. Especialmente a vocês: Ana Carolina Batista, Marcos Vinicius, Matheus Philip, Stéphane Estevão, Juliana Vieira, Talita Ferreira, Caíque Abreu, Joselice Silva, Murilo Greco, Thiago Correa, Williane Menezes, Emilene Rodrigues, Raul Ribeiro e Joashlenny Oliveira, vocês têm toda a minha gratidão pelos momentos de descontração que simplesmente foram os melhores, vocês se tornaram especiais durante essa trajetória.

Aos professores minha gratidão pelos ensinamentos. Em especial ao Prof. Dr. Marcelo Mattos Pedreira pela orientação e confiança depositada em meu trabalho durante esse período.

Agradeço também aos professores Dr. Gustavo Castro, Dr. Cleube Boari, Dr. Paulo Henrique Graziotti, Dr. Alex Sander Machado e Dr. Robson Silva pelo auxílio e disponibilidade dos laboratórios.

Aos técnicos, Elisângela Saraiva, Elizzandra Gandini, Mariana Dumont, Talita Ferreira e Pedro Canuto (Departamento de Zootecnia), Lindomar Souza, Eglerson Duarte e Giliane Rosa (Departamento de Agronomia), Patrícia Guimarães (Departamento de Fármácia) e Natália de Tartler (Departamento de Fisioterapia), pela contribuição e disponibilidade em ensinar e acompanhar a realização das análises laboratoriais necessárias e com parte dos materiais essenciais ao trabalho, aos funcionários terceirizados Paraguai, Zezinho, Zé Waldir e Julio e demais funcionários da UFVJM, muito obrigada, sem vocês não seria possível à conclusão deste trabalho.

Aos meus ex-professores Thiago Jorge e Deliane Costa, pelas orientações e conselhos mesmo após a graduação, sempre serei grata a vocês por terem guiado minhas escolhas profissionais.

Após membros da banca examinadora pelas considerações valiosas.

Obrigada Diamantina, por todo aprendizado, pela oportunidade de conhecer tantas pessoas maravilhosas! Essa trajetória foi de grande crescimento profissional e pessoal.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG – (Processo: APQ-01530-16), ao Banco do Nordeste do Brasil (Convenio BNB/FUNDECI 2012/324) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Com carinho, muito obrigada!

“Ama-se mais o que se conquista com esforço.”
Benjamin Disraeli

RESUMO

Foram realizados dois experimentos com o objetivo de avaliar a adição de diferentes níveis de alho e suas influências no desempenho zootécnico, sobrevivência, parâmetros hematológicos, morfologia intestinal e resistência a duas formas de estresse agudo, nas fases de pós-larva e juvenil. O primeiro experimento teve duração de 30 dias e o segundo 60 dias, organizados em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (0, 5, 10, 15, e 20g kg⁻¹) e quatro repetições. Foram utilizadas 400 pós-larvas e 200 juvenis de tilápia do Nilo. Os parâmetros medidos em ambos os experimentos foram: condutividade, pH, amônia, nitrito, nitrato, fosfato, alcalinidade, dureza, oxigênio, temperatura, peso, comprimento padrão, comprimento total, biomassa e sobrevivência. Foi calculado o ganho de peso, ganho de peso diário, conversão alimentar, taxa de crescimento específica e fator de condição de Fulton. No segundo experimento além das demais variáveis foram mensurados: glicose, taxa de hemoglobina, volume globular, contagem de eritrócitos, leucócitos, linfócitos, eosinófilos, neutrófilos basófilos, monócitos e altura de vilosidades intestinais, essas analisadas de forma qualitativa. Os dados foram submetidos à ANOVA e teste de regressão a 5% de significância. Para as pós-larvas, a inclusão do alho na dieta não influenciou a qualidade de água, o desempenho zootécnico e a sobrevivência após os desafios de estresse. Entretanto, a sobrevivência das pós-larvas após 30 dias de suplementação foi crescente até 10 g kg⁻¹ de alho. No segundo experimento, as variáveis limnológicas não foram alteradas. O comprimento padrão, biomassa e a conversão alimentar não foram alterados. Entretanto os demais índices zootécnicos, peso, comprimento total, ganho de peso, ganho de peso diário, fator de condição de Fulton, taxa de crescimento específico, assim como as sobrevivências avaliadas apresentaram efeito quadrático com pontos máximos próximos a 10 g kg⁻¹. As variáveis sanguíneas, glicose, taxa de hemoglobina, volume globular e linfócitos não apresentaram tendências a alterações em seus valores. Já a contagem de eritrócitos, leucócitos, eosinófilos, neutrófilos, basófilos e monócitos demonstraram efeitos quadráticos, com pontos máximos próximos a 10 g kg⁻¹. As alturas das vilosidades do intestino dos juvenis suplementados com alho foram classificadas como médias, enquanto os que não foram suplementados apresentaram vilosidades baixas.

Palavras-chave: alevinagem, hematologia e histologia, larvicultura, promotor de crescimento, sistema imunológico.

ABSTRACT

Two experiments were carried out with the objective of evaluating the addition of different levels of garlic and its influences on zootechnical performance, survival, hematological parameters, intestinal morphology and resistance to two forms of acute stress, in the post-larva and juvenile phases. The first experiment lasted 30 days and the second 60 days, organized in a completely randomized design, with five treatments (0, 5, 10, 15, and 20 g kg⁻¹) and four replications. 400 post-larvae and 200 juvenile Nile tilapia were used. The parameters measured in both experiments were: conductivity, pH, ammonia, nitrite, nitrate, phosphate, alkalinity, hardness, oxygen, temperature, weight, standard length, total length, biomass and survival. Weight gain, daily weight gain, feed conversion, specific growth rate and Fulton condition factor were calculated. In the second experiment, in addition to the other variables, glucose, hemoglobin rate, globular volume, erythrocyte count, leukocytes, lymphocytes, eosinophils, basophilic neutrophils, monocytes and intestinal villus height were measured, which were qualitatively analyzed. The data were submitted to ANOVA and regression test at 5% significance. For post-larvae, the inclusion of garlic in the diet did not influence water quality, zootechnical performance and survival after stress challenges. However, post-larvae survival after 30 days of supplementation was increased to 10 g kg⁻¹ of garlic. In the second experiment, the limnological variables were not changed. The standard length, biomass and feed conversion were not changed. However, the other zootechnical indexes, weight, total length, weight gain, daily weight gain, Fulton condition factor, specific growth rate, as well as the assessed survivals presented a quadratic effect with maximum points close to 10 g kg⁻¹. The blood variables, glucose, hemoglobin rate, globular volume and lymphocytes showed no tendency to change their values. The count of erythrocytes, leukocytes, eosinophils, neutrophils, basophils and monocytes showed quadratic effects, with maximum points close to 10 g kg⁻¹. The height of the villus of the intestines of juveniles supplemented with garlic were classified as medium, while those that were not supplemented had low villi.

Key Words: hatching, hematology and histology, larviculture, growth promoter, immune system

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição alimentar e bromatológica da dieta experimental base.....	36
Tabela 2. Parâmetros físico-químicos mantidos no ambiente experimental dos tratamentos .	37
Tabela 3. Médias, desvios padrão, coeficientes de variação, p-valor e coeficientes de determinação dos parâmetros de desempenho zootécnico de pós-larvas de tilápia do Nilo alimentadas com dieta controle ou suplementada com diferentes níveis de inclusão de alho (<i>Allium sativum</i>) desidratado em pó (5, 10, 15 e 20 g kg ⁻¹), durante 30 dias.....	39
Tabela 4. Composição alimentar e bromatológica da dieta comercial base	51
Tabela 5. Parâmetros físico-químicos mantidos no ambiente experimental dos tratamentos .	51
Tabela 6. Médias, desvios padrão, coeficientes de variação e p-valor dos parâmetros de desempenho zootécnico de juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com dieta suplementada com diferentes níveis de alho desidratado em pó (níveis de alho) (0, 5, 10, 15 e 20 g kg ⁻¹), durante 60 dias.....	54
Tabela 7. Médias, desvios padrão, coeficientes de variação (CV) e p-valor dos parâmetros hematológicos de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de alho em pó por 60 dias.....	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Variação da sobrevivência das pós-larvas de tilápia do Nilo em função da concentração de alho em pó acrescido na ração, após 30 dias de cultivo. Valores médios submetidos a ANOVA e REGRESSÃO ($p < 0,05$).....	40
Figura 2. Variação do peso, comprimento total, ganho de peso, ganho de peso diário, fator de condição de Fulton (K) e da taxa de crescimento específico (TCE) de juvenis de tilápia do Nilo em função da concentração de alho em pó acrescido na ração, durante 60 dias de cultivo. Valores médios submetidos a ANOVA e regressão ($p < 0,05$).....	55
Figura 3. Variação das sobrevivências, ao término do experimento, após estresse salino, e após exposição ao ar de juvenis de tilápia do Nilo em função da concentração de alho em pó acrescido na ração ofertada por 60 dias no cultivo. Valores médios submetidos a ANOVA e regressão ($p < 0,05$).....	56
Figura 4. Variação de eritrócitos e leucócitos eritrócitos de juvenis de tilápia, em função do acréscimo de alho na ração, após 60 dias de cultivo. Valores médios submetidos a ANOVA e REGRESSÃO ($p < 0,05$).....	57
Figura 5. Variação das porcentagens de eosinófilos, neutrófilos, basófilos e monócitos de juvenis de tilápia do Nilo em função da concentração de alho em pó acrescido na ração, durante 60 dias de cultivo. Valores médios submetidos a ANOVA e regressão ($p < 0,05$).....	58
Figura 6. Fotomicrografias do intestino anterior de juvenis de tilápia do Nilo, demonstrando a vilosidade intestinal, células caliciformes (C), submucosa (S) e túnica muscular (M) PAS/H 400x. As vilosidades foram classificadas como a) pequena b) média, c) média, d) média e e) média, quando os juvenis foram alimentados com dieta com inclusão de 0, 5, 10, 15 e 20 g kg-1 de alho em pó, respectivamente.	58

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 Tilápia do Nilo.....	18
2.2 Promotores de Crescimento.....	19
2.2.1 Aditivos Fitogênicos.....	20
2.2.2 Alho	21
2.3 Sistema Imunológico.....	22
2.4 Estresse	23
3 REFERÊNCIAS.....	25
ARTIGO 1:.....	34
4. SUPLEMENTAÇÃO DE ALHO (<i>ALLIUM SATIVUM</i>) EM PÓ DURANTE FASE LARVICULTURA DE TILÁPIA DO NILO.....	34
4.1 Introdução	34
4.2 Material e Métodos	35
4.3 Resultados.....	38
4.4 Discussão.....	40
4.5 Conclusão.....	43
4.6 Referências	44
ARTIGO II:.....	49
5 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS, HISTOLÓGICOS E ZOOTÉCNICOS DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO RECEBENDO DIETA COM ALHO EM PÓ (<i>ALLIUM SATIVUM</i>) DURANTE O INVERNO	49
5.1 Introdução	49
5.2 Material e Métodos	50
5.3 Resultados.....	54
5.4 Discussão.....	59
5.5 Conclusão.....	64
5.6 Referências	65

1 INTRODUÇÃO

Sem dúvida, a grande produtividade aquícola brasileira tem grande participação da tilápia, a espécie mais produzida no país (57% da produção em 2019) (PEIXEBR, 2020) e segunda espécie mais produzida no mundo (FAO, 2020). Dentre as tilápias, a tilápia do Nilo é a mais produzida e consumida, em que 375,60 milhões de toneladas foram produzidas no ano de 2018 no mundo (FAO, 2020). A rusticidade e características produtivas, além da boa aceitação favorecem os números crescentes de produção da tilápia.

A intensificação da produção pode tornar o ambiente estressante para os peixes, os manejos realizados para controle de produtividade e altas densidades de estocagem, por exemplo. Durante períodos estressantes, a energia passa a ser consumida para restaurar a homeostase, além de também desestabilizar o sistema imunológico, tornando-o mais susceptível a doenças e infecções. (OBA et al., 2009).

Portanto, para que não haja perdas produtivas e prejuízos na saúde e sobrevivência, alternativas estão sendo estudadas, como os promotores de crescimento. Esses produtos são utilizados na alimentação de peixes tem como objetivo beneficiar a produtividade, a imunidade e a sobrevivência dos peixes (SILVA e GALÁCIO, 2012). Muito se discute sobre os produtos utilizados como aditivos alimentares na aquicultura.

Uma das alternativas que vem sendo estudadas é o uso de aditivos fitogênicos. O seu benefício no desempenho animal está relacionado ao aumento nas secreções enzimáticas, melhorando a digestibilidade e absorção de nutrientes, e com suas propriedades antibacteriana, antiviral, antifúngica, antioxidante e imunoestimulatória (HASHEMI e DAVOODI, 2011).

O alho é um bulbo asiático, seus compostos sulfurados, alina, alicina e ajoeno possuem propriedades importantes e benéficas à saúde humana (BLOCK, 1992). Na aquicultura, o alho promove o crescimento e melhora o sistema imunológico e a palatabilidade (LEE e GAO, 2012), além de demonstrar atividade imunomoduladora, antioxidante e antimicrobiana (ABDEL-DAIM et al., 2015). Entretanto os aditivos alimentares possuem efeito dose-dependente, sua ação no animal depende da concentração do princípio ativo ao qual o animal está sendo submetido (HARIKRISHNAN et al., 2011).

Portanto, o objetivo com este trabalho foi avaliar a ação promotora de crescimento e imunoestimulante do alho sobre a tilápia do Nilo, estimando a dosagem que melhor permite o desenvolvimento da espécie.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Tilápia do Nilo

Pertencente a família Cichlidae, originário da África Ocidental, seu nome "tilápia" significa peixe em vocabulário africano, sendo composta por mais de 100 espécies (STERBA, 1962), dentre as quais 10 são relatadas como viáveis para cultivo (NABI et al., 2017).

O Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS), em 1950, iniciou estudos sobre o cultivo da espécie no Brasil. A partir de então a mesma foi introduzida para povoamento de reservatórios no Nordeste. Na região sudeste do país, a produção de alevinos iniciou por ações das Companhias Hidrelétricas dos estados de São Paulo e Minas Gerais, a fim de, distribuí-los a pequenas propriedades rurais suprindo assim os reservatórios (MOREIRA et al., 2007). A partir da década de 90 os mercados internacional e nacional passaram a comercializar a tilápia, permitindo o avanço da produção e desenvolvimento de técnicas para a tilapicultura (TOMAZELLI e PHILIPP, 2006).

A tilápia é a segunda espécie mais produzida no mundo e em 2018 foram produzidos 4.525,4 milhões de toneladas, sendo a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) a mais produzida (8,3%) (FAO, 2020). No Brasil, a tilápia continuou sendo a espécie mais produzida em 2019, quando foram 432,149 toneladas, representando mais de 50% da produção nacional de pescado, colocando o Brasil no 4º lugar do ranking de produção mundial de tilápias (PEIXEBR, 2020). Esses números de produção são favorecidos pela boa aceitação e o mercado consumidor, pelo animal apresentar uma carne branca com boas características organolépticas, além da facilidade no processamento de filés, por não possuir espinhos em “Y” (SIMÕES 2007; MEURER 2008). Além das vantagens comerciais, a rusticidade e as excelentes características produtivas, como um rápido crescimento, e ciclo de vida curto viabilizam o cultivo, permitindo o avanço crescente na produção (NANDLAL e PICKERING, 2004).

A rusticidade da espécie e sua capacidade adaptativa permite seu cultivo em diferentes formas e condições ambientais, tolerando variações nos parâmetros físico-químicos da água (TANNER, 1996). Entretanto para que a produção seja viável e lucrativa, a amplitude desses parâmetros deve ser encontrada entre 27,0 – 31,8°C para temperatura, 4,3 – 12 mg L⁻¹ para oxigênio dissolvido, pH entre 5,6 – 7,9, 0,29 – 0,42mg L⁻¹ de amônia, 0,11 – 0,13 mg L⁻¹ para nitrito e 4,9 – 9,9 mg L⁻¹ para nitrato (MERCANTE et al., 2011).

2.2 Promotores de Crescimento

O uso de aditivos alimentares na aquicultura destaca-se por beneficiar a produtividade, conversão alimentar, a imunidade e reduz a mortalidade dos peixes (SILVA e GALÁCIO, 2012). Em 2004, foi publicada a Instrução Normativa nº13 de 30 de novembro, onde se encontra a regulamentação sobre o uso de aditivos aplicados à alimentação animal, definindo os mesmos como quaisquer substâncias ou microrganismos incluídos na alimentação intencionalmente com o intuito de melhorar as características do alimento ou do animal.

Os promotores de crescimento quando adicionados a dieta dos animais, influenciam a população de microrganismos patogênicos e suas toxinas produzidas no tubo digestivo, diminuindo seus números, mesmo efeito exercido sobre a quantidade de células inflamatórias (DRUMOND et al., 2010), e também a capacidade de aumentar a absorção de nutrientes (BUSCOLO et al., 2011).

Os antibióticos são substâncias químicas medicamentosas usadas para suprimir o crescimento ou eliminar bactérias e outros microrganismos. São vários os mecanismos de ação desses medicamentos. Seus mecanismos de ação agem tanto na redução da camada celular, quanto na quebra de vias metabólicas (SERRANO 2005; HAYGOOD e JHA, 2016). Entretanto, em baixas concentrações, esses medicamentos aumentam a capacidade absorptiva do intestino e melhoram a digestibilidade de proteínas dietéticas (SERRANO 2005), auxiliando no aproveitamento da dieta e desempenho do animal.

Esses quimioterápicos promovem a resistência da microbiota gastrointestinal (HAYGOOD e JHA, 2016), podendo ser prejudiciais para os demais organismos aquáticos e ao ecossistema (FREITAS et al., 2018). Efeitos deletérios também já foram observados em peixes, após o uso indiscriminado de antibióticos (GUARDIOLA et al., 2012). O uso indiscriminado de antibióticos também pode gerar a presença de resíduos desses aditivos em tecidos e produtos aquícolas (SAMANIDOU e EVAGGELOPOULOU, 2007). Outro entrave é a proibição pela União Europeia ao uso de antibióticos como aditivos dentro de seu território, exigindo ajuste de manejo (MARON et al., 2013).

Após impostos esses obstáculos à utilização de antimicrobianos passou-se a buscar por aditivos que apresentassem as mesmas características, como prebióticos, probióticos, simbióticos e fitogênicos.

Prebiótico é toda substância que não pode ser digerida pelas enzimas gastrointestinais, mas que pode ser aproveitada pelos microrganismos intestinais por meio de hidrólise seletiva, o que passa beneficiar o lúmen intestinal (GIBSON e ROBERFROID, 1995). Os prebióticos

podem ser derivados de bactérias e leveduras, lipopolissacarídeos de membrana, oligossacarídeos, adjuvantes completos de Freund, glucanos, espécies de bactérias, quitina e de quitosana (SADO, 2008).

Para ser considerado um prebiótico, ele deve se manter íntegro na parte anterior no trato gastro intestinal, sem sofrer hidrólise ou absorção; sua fermentação deve ser seletiva pelas bactérias benéficas presentes no cólon; seu uso pelas bactérias deve alterar positivamente a composição microbiana do cólon; essas alterações na microbiota devem influenciar benéficamente a saúde do hospedeiro (FOOKS et al., 1999).

Já os probióticos são definidos como qualquer adjunto microbiano vivo que possa beneficiar o hospedeiro, através de modificações na microbiota aquática ou do próprio organismo, inibir a proliferação e colonização de microrganismos patógenos, além de agir sobre a mucosa intestinal e estimular o sistema imunológico (VENDRELL et al., 2008). Desde 1998, o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal, registra os *Bacillus toyoi*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae*, como probióticos.

A combinação de prebióticos e probióticos é chamada de simbióticos (GIBSON e ROBERFROID, 1995) e demonstra ter ação superior ao uso de seus componentes de forma separada (HOLZAPFEL e SCHILLINGER, 2002). O carboidrato presente no prebiótico é utilizado pelos microrganismos probióticos, fazendo com que a proliferação bacteriana seja seletiva (COLLINS e GIBSON, 1999).

Segundo Azevedo et al. (2016), o mecanismo imunológico ativado pelo simbiótico ainda não está bem estabelecido, já que o ambiente aquático de cultivo, ao qual os peixes são submetidos possui fatores que afetam o desempenho do animal e indiretamente a ação do simbiótico.

2.2.1 Aditivos Fitogênicos

Os aditivos fitogênicos, também conhecidos como fitoterápicos, já são usados há milhares de anos na medicina humana, pelo uso de ervas e especiarias através de chás, extratos e óleos (PASQUALI et al., 2014).

Aditivos fitogênicos ou alimentos funcionais são derivados de plantas que após serem incluídos na ração do animal, melhoram a palatabilidade e o desempenho zootécnico (STEINER, 2009).

Os benefícios da inclusão desses produtos na dieta estão diretamente relacionados à sua composição, seus princípios ativos, dentre eles alcalóides, esteroides, taninos, compostos fenólicos, terpenoides, saponinas glicosídeos e flavonoides (HARIKRISHNAN e BALASUNDARAM, 2011).

O uso de aditivos fitogênicos na aquicultura é recente e tem se destacado, uma vez que podem melhorar a sobrevivência (REVERTER et al., 2014; VAN-HAI, 2015), a palatabilidade da dieta (ABDEL-TAWWB et al., 2010; SANTHOSA et al., 2013), a digestibilidade, a conversão alimentar (TALPUR et al., 2013; PUTRA et al., 2013) e o ganho de peso (SHALABY et al., 2006; MAHDAVI et al., 2013; LIMA et al., 2015; GABRIEL et al., 2019). Os alimentos funcionais podem também alterar a secreção de saliva, suco gástrico, suco pancreático, sais biliares e enzimas do intestino delgado (PLATEL e SRINIVAN, 2004), influenciando na digestibilidade dos nutrientes. Além disso, os aditivos fitogênicos beneficiam o sistema imunológico dos peixes, aumentando o número de fagócitos, atividade da lisozima (TALPUR e IKHWANUDDIN, 2012; TALPUR et al., 2013; TALPUR, 2014), melhora a microbiota intestinal e a imunomodulação (TALPUR e IKHWANUDDIN, 2012; KIM et al., 2013). O efeito dos extratos na microbiota intestinal está relacionado com a redução da capacidade de adesão dos microrganismos patogênicos ao epitélio intestinal e com sua natureza hidrofóbica, devido a afinidade com os lipídeos da membrana (DORMAN e DEANS, 2000).

Mas como todo aditivo alimentar a adição excessiva pode causar efeito deletério no consumo e até intoxicação dos peixes (GABBI et al., 2009; SILVA et al., 2012).

2.2.2 Alho

Desde o Egito antigo, o alho é incorporado à culinária e medicina humana. O alho (*Allium sativum*) pertence à família Liliaceae, originário da Ásia, é uma erva bulbosa originária na Ásia, rica em vitaminas A, B1, B2, B6, C e E, e em minerais como cálcio, ferro e magnésio, compostos sulfurados e aminoácidos (AGARWAL, 1996; KOPEC et al., 2013).

Os compostos sulfurados que compõem o alho são, alina, alicina, ajoeno, S-alilcisteína S-etilcisteína entre outros. Além de conferir o odor e sabor característico do alho, esses compostos também possuem propriedades benéficas à saúde (BLOCK, 1992; LUTOMSKI, 2001; AMAGASE et al. 2001). Dentre os principais compostos organossulfurados presentes no alho, destaca-se a alicina, que se origina da degradação da aliina através da ação da enzima alinase (AGARWAL, 1996).

Na saúde humana, os benefícios do alho estão relacionados com sua capacidade de controlar a pressão arterial, possuir propriedades antioxidantes e antitumorais (ALMEIDA e SUYENAGA, 2009), controlar índices glicêmicos (EIDI et al., 2006) e antivirais (PAI e PLATT, 1995). Na aquicultura o alho tem mostrado bons resultados, promovendo o crescimento, melhora o sistema imunológico, além de melhorar a palatabilidade (LEE e GAO, 2012).

Sua ação imunomoduladora (AWAD e AWAAD, 2017), foi comprovada para trutas arco-íris (NYA e AUSTIN, 2009), robalo asiático (TALPUR e IKHWANUDDIN, 2012) e tilápias (NAQI et al., 2019). É atribuído à alicina a atividade imunomoduladora, antioxidante e antimicrobiana encontradas em truta marrom (*Oncorhynchus mykiss*) (NYA et al., 2010) e em tilápias do Nilo (ABDEL-DAIM et al., 2015). Além dos efeitos imunomodulatórios, a influência do alho sobre o consumo de ração demonstra sua capacidade de estimular o apetite, o crescimento, o ganho de peso (SHALABY et al., 2006; DIKEL et al., 2015; BÜYÜKDEVECI et al., 2018; SAMSON et al., 2019; GABRIEL et al., 2019) e a sobrevivência (THANIKACHALAM et al., 2010; TALPUR e IKHWANUDDIN, 2012; MILITZ et al., 2013; MEHRIM et al. 2014, GABRIEL et al., 2019).

2.3 Sistema Imunológico

O sistema imunológico é dividido em inato (não específico) e adaptativo (específico), ambos apresentando mecanismos de defesa mediados por células e fatores humorais (EWART et al., 2001). As duas divisões do sistema atuam conjuntamente para destruir invasores ou desencadear processos de defesa (URBINATI et al., 2014). O sistema imune inato é a primeira linha de defesa contra patógenos, sem que o sistema específico seja ativado (LEVRAUD e BOUDINO, 2009). O sistema específico ou adquirido permite a produção de anticorpos e memória imunológica (TRICHET, 2010) através dos órgãos linfoides e linfócitos dos tipos B e T, células apresentadoras de antígeno (APCs), imunoglobulinas e demais moléculas do sistema complemento (WATTS et al., 2001).

As células leucocitárias fazem a defesa do organismo através da corrente sanguínea, controlando danos nos tecidos e infecções (SATAKE et al., 2009). Os linfócitos dos peixes se apresentam em maior porcentagem dentre os demais leucócitos (CAMPBELL, 2012) e seu tráfego ocorre tanto pelo sangue, quanto pelo sistema linfático, se concentrando nos órgãos linfoides ou tecidos lesionados (PELETEIRO e RICHARDS, 1985; HIBIYA, 1994).

Os macrófagos circulantes, ou monócitos, são as primeiras células fagocíticas dos peixes (ELLIS, 1977), migram pelo sangue até o local infeccionado (MARTINS et al. 2009). São responsáveis por produzir e liberar citocinas, fagocitar substâncias estranhas ao organismo e apresentar antígenos aos linfócitos (SECOMBES e FLETCHER, 1992).

Os trombócitos migram para o foco inflamatório (RANZANI-PAIVA et al., 2013) semelhante aos macrófagos, participam da coagulação sanguínea (ELLIS, 1977), e dos processos de fagocitose, removendo células e tecidos mortos (MATUSHIMA e MARIANO, 1996).

2.4 Estresse

O estresse pode ser definido por uma gama de fatores, no qual o animal é submetido, desencadeando alterações fisiológicas que desestabilizam a homeostase (SEGANTIN e MAIA, 2007).

O estresse pode ser classificado em agudo e crônico (MOREIRA et al., 2011). O primeiro gera reações de alarme, sendo de curta duração e com alta intensidade ocorre, por exemplo, com a exposição dos peixes ao ar durante pesagem (FAGUNDES, 2009). Entretanto, o segundo é considerado um estresse de baixa intensidade, mas prolongado, como superpopulação, ou a uma possível doença (WENDERLAAR BONGA, 1997).

A resposta aos fatores estressantes acontece em três níveis, primário, secundário e terciário. As respostas principiam nos eixos hipotalâmico simpático e hipotalâmico hipofisário interrenal, liberando catecolaminas e corticosteroides na corrente sanguínea (MAZEAUD et al., 1977; MORGAN e IWAMA, 1997).

A liberação de catecolaminas eleva o volume de eritrócitos e sua circulação, juntamente com a taxa de hemoglobina (MARIANO, 2006), níveis de lactato plasmático e muscular também são aumentados, enquanto o pH e concentração de oxigênio sanguíneos sofrem uma diminuição (OBA et al., 2009).

Já o cortisol circulante, altera o balanço hidromineral e o metabolismo energético, atingindo principalmente o fígado e intestino (OBA et al., 2009), estimula a gliconeogênese (CASTRO e FERNANDES, 2009), e a lipólise no fígado (SHERIDAN, 1994). As atividades fisiológicas exercidas pelas substâncias liberadas fazem parte das respostas secundárias

A partir do momento em que o animal alcança a exaustão, inicia-se o terceiro nível de resposta, quando o animal se torna mais susceptível a doenças e infecções (OBA et al., 2009).

Grande parte das espécies de peixes possui adaptação à altas concentrações salinas na água. Os peixes de água doce não se adaptam de maneira eficiente à concentrações salinas acima de 0,5 partes por mil (IAL e IUSB, 1958), enquanto os peixes marinhos podem tolerar 30 – 40 partes por mil de salinidade, conforme o sistema de salinidade de Veneza. Alterações na concentração de sais no meio aquático interferem na homeostase fisiológica e nos processos biológicos ocasionando respostas fisiológicas de estresse.

Outra situação de estresse é a exposição ao ar, também conhecida por hipóxia, que pode ser causada pela variação de oxigênio dissolvido na água. Algumas situações aumentam as chances de expor o animal a tal estresse, como quantidade de peixes acima da capacidade do viveiro, ou por competição de oxigênio, ocasionada por excesso de algas e macrófitas (SILVEIRA et al., 2009).

3 REFERÊNCIAS

- ABDEL-DAIM, M. M., ABDELKHALEK, N. K., & HASSAN, A. M., 2015. Antagonistic activity of dietary allicin against deltamethrin-induced oxidative damage in freshwater Nile tilapia; *Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 111, 146-152. doi:10.1016/j.ecoenv.2014.10.019
- ABDEL-TAWWAB, M., AHMAD, M.H., SEDEN, M.E.A., SAKR, S.F., 2010. Use of green tea, *Camellia sinensis*, L., in practical diet for growth and protection of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), against *Aeromonas hydrophila* infection. *Journal of the World Aquaculture Society* 41, 203-213. doi:10.1111/j.1749-7345.2010.00360.x.
- AGARWAL, K.C., 1996. Therapeutic actions of garlic constituents. *Medicinal Research Reviews*. Rhode Island 16, 111-124. Disponível em: [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1098-1128\(199601\)16:1%3C111::AID](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1098-1128(199601)16:1%3C111::AID)
- ALMEIDA, A., SUYENAGA, E. S., 2009. Ação Farmacológica do Alho (*Allium sativum* L.) pelo Roundup em Piauçu – (*Leporinus macrocephalus*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 61, 621-627.
- AMAGASE, H., PETESCH, B. L., MATSUURA, H., KASUGA, S., ITAKURA, Y., 2001. Intake of Garlic and its Bioactive Components, *Journal of Nutrition*. 131, 955-962.
- AWAD, E., AWAAD, A., 2017. Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. *Fish Shellfish Immunology* 67, 40-54.
- AZEVEDO, R. V., FILHO, J. C. F., PEREIRA, S. L., CARDOSO, L. D., JÚNIOR, M. V. V., ANDRADE, D. R., 2016. Prebiotic, probiotic and synbiotic supplementation in diets for juvenile tambaquis at two stocking densities. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 51, 9-16.
- BLOCK, E., 1992. The organosulfur chemistry of the genus *Allium* – implications for the organic chemistry of sulfur. *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* 31, 1135 – 1178.
- BUSTOLO, W.R., SIGNOR, A., FREITAS, J. M. A., BITTENCOURT, F., FEIDEN, A., 2011. Nutrição de Peixes Nativos. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 40, 145-154. http://www.uece.br/cienciaanimal/dmdocuments/artigo03_2015_4.pdf. Acesso: 08/03/2020.
- BÜYÜKDEVECİ, M. E., BALCÁZAR, J. L., DEMIRKALE, I., DIKEL, S., 2018. Effects of garlic-supplemented diet on growth performance and intestinal microbiota of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 486, 170-174.
- CAMPBELL, T. W., 2012. Hematology of Fish. In: THRALL, M. S., WEISER, G., ALLISON, R., CAMPBELL, T. W. (Eds.). *Veterinary Hematological and Clinical Chemistry*. John Wiley e Sons, Ames. 2, 298-312.

- CASTRO, F.J., FERNANDES, M. N., Efeitos Da Infestação Por Parasitos Argulídeos Na Fisiologia E Mecanismos De Defesa Inata Em Peixes Cultivados. In: TAVARES-DIAS, M. (Org.). Manejo E Sanidade De Peixes Em Cultivo. Macapá: Embrapa Amapá, p. 361-388.
- COLLINS, M. D., GIBSON, G. R., 1999. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics: Approaches for Modulating the Microbial Ecology of the Gut. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda 69, 1052-1057.
- Compêndio, Brasileiro de Alimentação Animal. São Paulo: Sindirações; Anfar; Campinas: CBNA; SDR; MA, 1998. 371p.
- DIKEL, S. 2015. Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Büyüme Artırıcı Olarak Sarımsak (*Allium sativum*) Kullanımı. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi* 3, 529-536.
- DORMAN, H. J.D., DEANS, S. G., 2000. Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils. *Journal of Applied Microbiology* 88, 308-316.
- DRUMOND G. V. F., CAIXEIRO, A. P.A., TAVARES-DIAS, M., MARCON, J. L., AFONSO, E.G., 2010. Características Bioquímicas e Hematológicas do Pirarucu *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) (Arapaimidae) de Cultivo Semi-intensivo na Amazônia. *Acta Amazonica* 40, 591-596. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/aa/v40n3/20.pdf>. Acesso: 16/03/2020.
- EIDI, M., ESMAEILLI, E., 2006. Antidiabetic Effect of Garlic (*Allium sativum* L.) in Normal and Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Phytomedicine* 13, 624-629.
- ELLIS, A. E., 1977. The leucocytes of Fish: a Review. *Journal Fish Biology* 11, 453-491.
- FAGUNDES, M. Estudos Fisiológicos E Metabólicos Do Estresse De Manejo Do Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). 2009. 143f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.
- FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. doi:10.4060/ca9229en
- FOOKS, L. J., FULLER, R., GIBSON, G. R., 1999. Prebiotics, Probiotics and Human Gut Microbiology. *International Dairy Journal* 9, 53-61.
- FREITAS, E. C., ROCHA, O. ESPÍNDOLA, E. L. G., 2018. Effects of Florfenicol and Oxytetracycline on the Tropical Cladoceran *Ceriodaphnia Silvestrii*: A Mixture Toxicity Approach to Predict the Potential Risks of Antimicrobials for Zooplankton. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, 162, 663-672. doi:10.1016/J.Ecoenv.2018.06.073.

- GABBI, A. M., VIEGAS, J., SCKONIESKI, F. R., MORAES, R. S., 2009. Desempenho Produtivo e Comportamento de Novilhas Submetidas a Dietas com Aditivo Fitogênico. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 10, 949-962.
- GABRIEL, N. N., WILHELM, M. R., HABTE-TSION, H. M., CHIMWAMUROMBE, P., OMOREGIE, E., 2019. Dietary Garlic (*Allium sativum*) Crude Polysaccharides Supplementation on Growth, Haematological Parameters, whole Body Composition and Survival at Low Water pH Challenge in African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. *Scientific African*, 5, e00128. doi:10.1016/j.sciaf.2019.e00128
- GIBSON, G.R., ROBERFROID, M.B., 1995. Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *Journal of Nutrition* 125, 1401–12.
- GUARDIOLA, F. A., CEREZUELA, R., MESEGUER, J., ESTEBAN, M. A., 2012. Modulation of the Immune Parameters and Expression of Genes of Gilthead Seabream (*Sparus Aurata* L.) by Dietary Administration of Oxytetracycline. *Aquaculture* 334, 51-57. doi:10.1016/J.Aquaculture.2012.01.003
- HARIKRISHNAN, R., BALASUNDARAM, C., HEO, M. S., 2011. Impact of Plant Products on Innate and Adaptive Immune System of Cultured Finfish and Shellfish, *Aquaculture* 317, 1-15.
- HASHEMI, S. R. AND DAVOODI, H. 2011. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. *Veterinary Research Communications* 35:169-180.
- HAYGOOD, A. M., JHA, R., 2016. Strategies To Modulate the Intestinal Microbiota of Tilapia (*Oreochromis* Sp.) in Aquaculture: A Review. *Reviews in Aquaculture* 10, 320-333. doi:10.1111/Raq.12162
- HIBIYA, T., 1994. An Atlas of Fish Histology: Normal and Pathological Features. Stuttgart: Gustav Fish Verlag 5-125.
- HOLZAPFEL, W. H., SCHILLINGER, U., 2002. Introduction to Pre and Probiotics. *Food Research International*. Amsterdam 35, 109-116.
- KIM, K. T., JEON, H. G., CHO, H. S., SANG, G. L., KWON, M. G., YOO, J. H., 2013. Effects of Dietary Inclusion of Various Concentrations of *Scutellaria baicalensis* Georgi Extract on Growth, Body Composition, Serum Chemistry and Challenge Test of Far Eastern Catfish (*Silurus asotus*). *Aquaculture Research* 44, 1502-1510.
- KOPEC, A., PIATKOWSKA, E., LESZCZYNSKA, T., SIKORA, E., 2013. Healthy Properties of Garlic. *Current Nutrition & Food Science*. 9, 59-64.

- LEE, J. Y., GAO, Y., 2012. Review of the Application of Garlic, *Allium sativum*, in Aquaculture. 43, 447-458.
- LEVRAUD, J.P., BOUDINOT, P., 2009. The Immune System of Teleost Fish. Medicinal Science. 25, 405-411.
- LIMA, K. S., CIPRIANO, F. S., OLIVEIRA-JÚNIOR, F. M., TONINI, W. C T., SOUZA, R. H. B., SIMÕES, I. G. P. C., BRAGA, L. G. T., 2015. Performance and hematological variables of piavuçu whose diets were supplemented with phytobiotic and probiotic additives. Semina: Ciências Agrárias 36, 2881-2892.
- Lutomski, J., 2001. Garlic Fascination, Yesterday and Today. Post Fitoter 1, 7-14.
- MAHDAVI, M., HAJIMORADLOO, A., GHORBANI, R., 2013. Effect of Aloe Vera Extract on Growth Parameters of Common Carp (*Cyprinus carpio*), World Journal of Medicine Science 9, 55-60.
- MARIANO, W. S. Respostas Fisiológicas e Bioquímicas do Jeju, *Hopleryrhinus unitaeniatus* (Characiformes, Erythrinidae) a Exposição Aérea. 2006. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos. Mestrado. São Carlos, 2006.
- MARON, D. F., SMITH, T. JS, NACHMAN, K. E., 2013. Restrictions on Antimicrobial Use in Food Animal Production: An International Regulatory and Economic Survey. Globalization and Health 9, 48. doi:10.1186/1744-8603-9-48
- MARTINS, M. L., MYIAZAKI, D. M. Y., TAVARES-DIAS, M., FENERICK JR. J., ONAKA, E. M., BOZO, F., FUJIMOTO, R. Y., MORAES, F. R. 2009. Characterization of The Acute Inflammatory Response in the Hybrid Tambacu (*Piaractus Mesopotamicus* Male X *Colossoma Macropomum* Female) (Osteichthyes). Brazilian Journal of Biology 69, 631-637.
- MATUSHIMA, E. R., MARIANO, M., 1996. Kinetics of the Inflammatory Reaction Induced by Carrageenin in the Swimbladder of *Oreochromis niloticus* (Nile Tilapia). Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science 33, 5-10.
- MAZEAUD, M. M., MAZEAUD, F., DONALDSON, E. M., 1997. Primary and Secondary Effects of Stress in Fish: Some New Data with a General Review. Transactions of the American Fisheries Society 106, 201-212.
- MEHRIM, A. I., KHALIL, F. F. REFAEY, M. M., 2014. Evaluation of Dietary Addition of Garlic (*Allium sativum*) Lobes on Growth Performance, Feed Utilization, and Physiological Responses of *Oreochromis niloticus*, Fingerlings. Abbassa International Journal of Aquaculture 7, 342-361.

- MERCANTE, C. T. J., DO CARMO, C. F., RODRIGUES, C. J., OSTI, J. A. S., MAINARDES PINTO, C. S., VAZ-DOS-SANTOS, A. M., TUCCI, A., DI GENARO, A. C. (2018). Limnologia de viveiro de criação de tilápias do Nilo: avaliação diurna visando boas práticas de manejo. *Boletim do Instituto de Pesca*, 37, 73-84.
- Meurer, F.; Hayashi, C.; Costa, M.M.; Mascioli, A. S.; Saragiotto, L. M., Freccia, A., 2008. Levedura como probiótico na reversão sexual da tilápia-do-Nilo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 9, 804-812.
- Militiz, T. A., Southgate, P. C., Carton, A. G., Hutson, K. S., 2013. Dietary Supplementation of Garlic (*Allium sativum*) to Prevent Monogenean Infection in Aquaculture. *Aquaculture* 408-409, 95-99.
- Moreira, A. A., Hilsdorf, A. W., Da Silva, J. V., De Souza, V. R., 2007. Variabilidade Genética de Duas Variedades de Tilápia Nilótica por Meio de Marcadores Microsatélites. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42, 521-526.
- Moreira, D.M.V., Ferreira, P.M.F., Zuanon, J.A.S., Salaro, A.L., Alves, L.O., Dias, D.C., 2011. Tolerância Aguda e Subcrônica de Juvenis de Acará-bandeira à Salinidade da Água. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*. 6, 38 – 47.
- Morgan, J. D.; Iwama, G. K., 1997. Measurements of Stressed States in The Field. In: Iwama, G. K., Pickering, A. D., Sumpter, J. P. *Fishy Stress And Health In Aquaculture*. Cambridge: University Press, P. 274-268. 1997.
- Nabi, M. M., Abdul Halim, M., Nahar S., 2017. Study on Production Performance and Economic of Mono-Sex Tilapia Culture at Marginal Farmer's Ponds Ii Gopalganj Bangladesh. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies* 5, 104-108.
- Nandlal, S., Pickering, T. 2004. Tilapia Piscicultura em Países das Ihas do Pacífico. Vol.2, Tilapia Grow-out in Ponds. Noumea, Nova Caledônia: SPC, Secretariado da Comunidade do Pacífico. Artigos técnicos de aquicultura. 49 p.
- Naqi, J. A., Mateen, A., Hussain, D., Tahir, H. M., Hussain, S., Tabassum, A., 2019. Effect of *Allium sativum* Supplemented Doets on Growth and Haematological Response in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) *Pakistan Journal of Zoology* 51, 257-263. doi: 10.17582/journal.pjz/2019.51.1.257.263
- Nya, E. J., Austin, B., 2009. Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish. Dis.* 32, 963-970.

- Nya, E.J.; Dawood, Z.; Austin, B., 2010. The garlic component, allicin prevents disease caused by *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases 33.293-30.
- Oba, E. T. Y., Mariano, W. S., Santos, L. R B. Estresse em Peixes Cultivados: Agravantes e Atenuantes para o Manejo Rentável. In: Tavares-Dias, M. (Org.). Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo. Macapá: Embrapa Amapá, P. 226-247, 2009.
- Pai, S. T., Platt, M. W., 1995. Antifungal Effects of *Allium sativum* (Garlic) Extract Digestibility, Performance, Organs Morphometry and Intestinal Histology of Weanling Pigs. Brazilian Journal of Animal Science 35, 1389-1397.
- Pasquali, M. A. G., Oimenta, M. E. G., 2014. Aditivos Fitogênicos, uma Alternativa ao Uso de Antibióticos Promotores de Crescimento da Alimentação de Aves. Enciclopedia Biosfera 10, 18p.
- PEIXE, BR. (2020). Anuário Brasileiro da Piscicultura PEIXE BR 2020. São Paulo: Associação Brasileira da Piscicultura. 135 p.
- Peleteiro, M. C., Richards, R. H., 1985. Identification of Lymphocytes in the Epidermis of the Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* Richardson. Journal of Fish Diseases 8, 161-172.
- Platel, K., Srinivasan, K., 2004. Digestive Stimulant Action of Spices: A Myth or Reality? Indian Journal of Medical Research 119, 167-179.
- Putra, A., Santoso, U., Lee, M. C., Nan, F. H., 2013. Effects of Dietary Katuk Leaf Extract on Growth Performance, Feeding Behavior and Water Quality of Grouper *Epinephelus coioides*. Aceh International Journal of Science and Technology 2, 17–25.
- Ranzani-Paiva, M. J. T., Pádua, S. B., Tavares-Dias, M., Egami, M. I., 2013, Métodos para Análise Hematológica em Peixes. Eduem. 140p.
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., Sasa, P., 2014. Use of Plant Extracts in Fish Aquaculture as an Alternative to Chemotherapy: Current Status and Future Perspectives. Aquaculture 433, 50-61. doi:10.1016/j.aquaculture.2014.05.048
- Sado, R. Y., 2008. Imunoestimulantes Dietéticos e Respostas Biológicas, Bioquímicas e Hematológicas de Juvenis de *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) 136p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Piracicaba, 2008.
- Samanidou, V. F., Evaggelopoulou, E. N., 2007. Analytical Strategies to Determine Antibiotic Residues in Fish. Journal of Separation Science 30, 2549-2569. doi:10.1002/Jssc.200700252.

- SAMSON, J. S., 2019. Effect of garlic (*Allium sativum*) supplementes diets on growth, feed utilization and survival of red tilapia (*Oreochromis* sp.) International Journal of Agricultural Technology 15, 637-644.
- SANTHOSHA, S.G., PRAKASH, JAMUNA, PRABHAVATHI, S.N., 2013. Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance: a review. Food Bioscience 3, 59-74.
- Satake, F., Pádua, S. B., Ishikawa, M. M., 2009. Distúrbios Morfológicos em Células Sanguíneas de Peixes em Cultivo: uma Ferramenta Prognóstica. In: Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo. TAVARES-DIAS, M (Org.). Embrapa Amapá 330-345.
- SECOMBES, C. J., FLETCHER, T. C. 1992. The Role of Phagocytes in the Protective Mechanisms of Fish. Annual Review of Fish Diseases Journal 2, 53-71.
- SEGANTIN, O. G., MAIA, L. F. M. Estresse Vivenciado pelos Profissionais que Trabalham na Saúde. 2007.49f. Monografia (Especialização) – Instituto De Ensino Superior De Londrina, Londrina, 2007.
- SERRANO, P. H., 2005 Responsible Use of Antibiotics in Aquaculture. Food and Agriculture Org., 2005.
- SHALABY, A.M., KHATTAB, Y.A., ABDEL RAHMAN, A.M., 2006. Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal Venomous Animals and Toxins 12, 172–201.
- Sheridan, M. A., 1994. Regulation of Lipid Metabolism in Poikilothermic Vertebrates. Comparative Biochemistry and Physiology 107b, 495-508.
- SILVA L. E. S., GALÍCIO, G. S., 2012. Alimentação de Peixes em Piscicultura Intensiva. Enciclopédia Biosfera 8, 49-62. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2012b/ciencias%20agrarias/Alimentacao.pdf>. Acesso: 12/03/2020
- SILVA, T. R. G., MARTINS, T. D. D., SILVA, J. H. V., DA-SILVA, L. P. G., PASCOAL, L. A. F., OLIVEIRA, E. R. A., BRITO, M. B., 2012. Inclusão de Óleos Essenciais como Elementos Fitoterápicos na Dieta de Suínos. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal 13, 81-191.
- SILVEIRA, U. S., LOGATO, P. V. R., PONTES, E. C. P., 2009. Fatores Estressantes em Peixes. Revista De Nutrição 6, 1001-1017.

- SIMÕES. R. M., RIBEIRO. A. F. C., RIBEIRO. A. C. S., PARK. J. K.; MURR. X. E. F., 2007. Composição Físico-Química, Microbiológica e Rendimento do Filé de Tilápia Tailandesa (*Oreochromis Niloticus*). Ciência Tecnologia de Alimentos 27, 608-613.
- STEINER, T., 2009. Phyto-genics in Animal Nutrition: Natural Concepts to Optimize Gut Health and Performande. Austria. 147-156.
- STERBA, G., 1962. Freshwater Fishes of the World Vista Books, London.
- TALPUR A. D., 2014. *Mentha piperita* (Peppermint) as feed additive enhanced growth performance, survival, immune response and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) against *Vibrio harveyi* infection. Aquaculture 420-421, 71- 78. doi:10.1016/j.aquaculture.2012.07.035.
- TALPUR, A. D., IKHWANUDDIN, M., 2012. Dietary effectss of garlic (*Allium sativum*) on haemato-immunological parameters, survival, growth, and disease resistance against *Vibrio harveyi* infection in Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch). Aquaculture 364-365, 6-12.
- TALPUR, A.D., IKHWANUDDIN, M., AMBOK BOLONG, A.-M., 2013. Nutritional Effects of Ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) on Immune Response of Asian Sea Bass, *Lates calcarifer* (Bloch) and Disease Resistance Against *Vibrio harveyi*. Aquaculture 400–401, 46–52
- TANNER, C. C., 1996. Plants for Constructed Wetland Treatment Systems – A Comparison of The Growth and Nutrient Uptake of Eight Emergent Species. Ecological Engineering 7, 59-83.
- THANIKACHALAM, K., KASI, M., RATHINAM, X.,2010. Effect of garlic on growth, hematological parameters and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in African catfish *Clarias gariepinus* (Bloch) fingerlings. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 614-618.
- Tomazelli Júnior, O., Philippi, L. M. N., 2006. O Brasileiro É Consumidor de Pescado. Panorama Da Aquicultura 16, 39-45.
- TRICHET, V. V., 2010. Nutrition and Immunity: an Update. Aquaculture Research 41, 321-449.
- URBINATI, E. C., ZANUZZO, F. S., BILLER-Takahashi, J. D.2014. Estresse e Sistema Imune em Peixes. In: BALDISSETOTTO, B., CYRYNO, J. E. P. C., URBINATI, E. C. (Org.) Biologia e Fisiologia de Peixes Neotropicais de Águas Doce. Jaboticabal: FUNEP., UNESP, 2014.

- VAN-HAI, N., 2015. The Use of Medicinal Plants as Immunostimulants in Aquaculture: a Review, *Aquaculture* 446, 88-96.
- VENDRELL, D., BALCÁZAR, J. L., IGNACIO DE BLAS, I. R. Z., GIRONÉS, O., MÚZQUIZ, J. L., 2008. Protection of Raibow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) from Lactococcosis by Probiotic Bacteria. *Comparative Immunology, Microbiology e Infectious Diseases*. Oxford 31, 337-345.
- WATTS, M., MUNDAY, B. L., BURKE, C. M., 2001. cDNA Sequence and Organization of IgM Heavy Chain Genes in Two Holostean Fish. *Developmental and Comparative Immunology* 19, 153-164.
- WENDERLAAR BONGA, S.E. 1997. The Stress Response in Fish. *Physiological Reviews* 77, 591-625.

ARTIGO 1:

4. SUPLEMENTAÇÃO DE ALHO (*ALLIUM SATIVUM*) EM PÓ DURANTE FASE LARVICULTURA DE TILÁPIA DO NILO

4.1 Introdução

O emprego de aditivos alimentares em dietas usadas na aquicultura tem o objetivo de melhorar o desempenho e o sistema imune, aumentando a resistência às constantes manipulações durante manejos e à doenças (CHO e LEE, 2012; SALEH et al., 2015). Entretanto, a eficiência dos aditivos depende de fatores como, a espécie para qual o produto está sendo empregado (FRECCIA et al., 2014) e seu estágio de desenvolvimento (CAMPAGNOLO et al., 2013; YILMAZ et al., 2015).

Além disso, deve-se considerar que a ação dos produtos também é dose-dependente. Baixas concentrações pode não apresentar efeitos sobre o desempenho dos animais (CAMPAGNOLO et al., 2013; AZEVEDO et al., 2016), da mesma forma que concentrações muito altas podem apresentar toxicidade e piora na palatabilidade, diminuindo o consumo da dieta (COSTA et al., 2011; TRAESEL et al., 2011; SILVA et al., 2012).

Dentre as várias substâncias que são utilizadas como aditivos promotores de crescimento encontram-se os antibióticos (REDA et al., 2013; ANDRADE et al., 2017; DANTAS-FILHO et al., 2020), mesmo estando sujeitos a restrições devido aos efeitos residuais e resistência bacteriana, que podem ser transmitidas ao ambiente e consumidores (LEE e GAO, 2012). Estes vêm sendo estudados além de outros produtos, extratos secos ou óleos essenciais de planta, também chamados de alimentos funcionais, fitoterápicos ou imunoestimulantes, como canela (*Cinnamomum zeylanicum*) (LIMA et al., 2015), hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) (TALPUR 2014), gengibre (*Zingiber officinale Roscoe*) (TALPUR et al 2013), chá verde (*Camellia. sinensis*) (ABDEL-TAWWAB et al., 2010), alho (*Allium sativum*) (SHALABY et al., 2006; TALPUR e IKHWANUDDIN et al., 2012; LIMA et al., 2015; BÜYÜKDEVECİA et al., 2018), que estão apresentando bons resultados na criação de peixes, aceitação pelos consumidores e menor risco dos resíduos ao meio ambiente.

Pertencente à família Liliaceae, o alho (*Allium sativum*) possui propriedades terapêuticas devem-se aos componentes oligosulfurados, principalmente a alicina (BLOCK, 1992; NYA et al., 2010). As propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes, palatabilizantes, hepatoprotetoras, imunoestimulantes e antivirais (TALPUR e IKHWANUDDIN, 2012; SANTHOSHA et al., 2013; SYAHIDAH et al., 2015)

proporcionam a utilização do alho como aditivo alimentar para promover a eficiência alimentar e o ganho de peso de peixes (TALPUR e IKHWANUDDIN, 2012; SALEH et al., 2015; DIKEL, 2015; BÜYÜKDEVECI et al., 2018; GABRIEL et al., 2019), além de proporcionar maior resistência a patógenos (TALPUR e IKHWANUDDIN, 2012; MILITZ et al., 2013; GABRIEL et al., 2019) e substâncias tóxicas como a amônia (YOUSEFI et al., 2020).

A tilápia foi o segundo peixe mais produzido (10,2%) no mundo em 2018 (FAO, 2020). Esse crescimento gera a necessidade do aumento da produção de alevinos nas mais diversas localidades, especificidades dos mercados locais e com melhor qualidade.

Uma das formas de suprir essa demanda é com a utilização de aditivos nas rações de peixes durante o período de larvicultura. Entretanto são escassos os estudos quanto ao uso do alho durante a larvicultura de tilápias.

Dessa forma, o objetivo com esse trabalho é avaliar o desempenho zootécnico e sobrevivência de pós-larvas de tilápia do Nilo alimentadas com dieta contendo diferentes níveis de alho em pó.

4.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Aquacultura e Ecologia Aquática da Universidade Federal dos Vales de Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), campus JK, em Diamantina - MG (1387 m de altitude; 18° 10' S, 43° 30' W) durante 30 dias. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFVJM (nº 031/2019).

Pós-larvas de tilápia do Nilo (400) com peso inicial de $14,4 \pm 1,98$ mg e comprimento de $1,04 \pm 0,08$ cm, foram alojadas em 20 aquários (40 L), em sistema de recirculação, com aeração constante, água aquecida por meio de resistência e fotoperíodo controlado (12 horas de luz e 12 horas de escuridão) na densidade de 0,5 peixes L⁻¹, 20 peixes aquário⁻¹, condição em que foram aclimatados por sete dias antes do início do experimento.

Os peixes foram alimentados com uma ração experimental farelada base (Tabela 1) com cinco níveis de adições de alho desidratado em pó (Adicel[®]) (0, 5, 10, 15 e 20 g kg⁻¹), em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições.

O alho em pó foi diluído em álcool etílico absoluto e adicionado por aspersão “on top” à dieta durante a mistura dos ingredientes. Após mistura a dieta foi seca em estufa a 40°C por 24h e armazenada em recipientes mantidos em refrigeração.

As dietas foram oferecidas seis vezes ao dia (8, 10, 12, 14, 16 e 18h) em 20% da biomassa, sendo este ajustado no 15º dia, após biometria de dois indivíduos de cada aquário

previamente anestesiados segundo Vidal et al. (2008). A formulação e composição alimentar da dieta base seguiram as recomendações das Tabelas Brasileiras para de Nutrição de Tilápias (Furuya, 2010) e, analisada sua composição bromatológica (AOAC, 2016) no Laboratório de Nutrição Animal – UFVJM.

Tabela 1. Composição alimentar e bromatológica da dieta experimental base

Componentes	Tratamentos				
	0g kg ⁻¹	5 g kg ⁻¹	10 g kg ⁻¹	15 g kg ⁻¹	20 g kg ⁻¹
Milho	330,00	330,00	330,00	330,00	330,00
Extrato de soja	494,00	494,00	494,00	494,00	494,00
Farinha de peixe	45,00	45,00	45,00	45,00	45,00
Óleo de soja	71,40	71,40	71,40	71,40	71,40
Fosfato bicálcico	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00
Sal (NaCl)	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
L-lisina	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
M-metionina	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
BHT	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Vitamina C	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Suplemento mineral e vitamínico*	41,40	41,40	41,40	41,40	41,40
17 α -metiltestosterona**	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Alho em pó	0	5	10	15	20
Composição bromatológica	(g kg ⁻¹)				
Umidade	8	8	8	8	8
Proteína bruta	35	35	35	35	35
Extrato etéreo	7	7	7	7	7
Matéria fibrosa	3	3	3	3	3
Matéria mineral	8	8	8	8	8
Cálcio	2	2	2	2	2
Fósforo	1	1	1	1	1

*Composição suplemento mineral vitamínico kg⁻¹: vit. A – 900,000 UI; vit. D3 – 50,000 UI; vit. E – 6,000 mg; vit. K3 – 1,200 mg; vit. B1- 2,400 mg; vit. B2 – 2,400 mg; vit. B6 – 2,000 mg; vit. B12 – 4,800 mg; ácido fólico – 1,200 mg; pantotenato de cálcio – 12,000 mg; vit. C – 24,000 mg; biotina - 6,0 mg; colina – 65,000 mg; ácido nicotínico – 24,000 mg; Fe – 10,000 mg; Cu - 600 mg; Mn – 4,000 mg; Zn - 6000 mg; I - 20 mg; Co - 2,0 mg; e Se - 25 mg.

** Guerrero (1982)

Para limpeza dos aquários, todos os dias eram renovados 20% do volume de cada, removendo assim resíduos e excesso de matéria orgânica. Semanalmente, os parâmetros da

água, temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica, foram medidos através da sonda multiparâmetros (Horiba W-22XDD) e as análises de amônia, nitrito, nitrato, fosfato, alcalinidade e dureza foram realizadas de acordo com a metodologia descrita em APHA (2017) para que o ambiente experimental fosse mantido adequado para o cultivo da espécie e semelhante entre os tratamentos, apresentando os parâmetros próximos aos descritos por Mercante et al. (2011) e Silva et al (2017) (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros físico-químicos mantidos no ambiente experimental dos tratamentos

Parâmetros	0 g kg ⁻¹	5 g kg ⁻¹	10 g kg ⁻¹	15 g kg ⁻¹	20 g kg ⁻¹
O ₂ dissolvido (mg L ⁻¹)	5,12	5,04	4,95	5,05	5,01
Temperatura (°C)	28,24	28,4	28,30	28,30	28,2
Amônia (mg L ⁻¹)	0,213	0,224	0,214	0,211	0,213
Nitrito (mg L ⁻¹)	0,033	0,034	0,035	0,034	0,035
Nitrato (µg L ⁻¹)	1,42	1,43	1,40	1,42	1,43
Fosfato (mg L ⁻¹)	0,14	0,15	0,14	0,13	0,13
Alcalinidade (mgCaCO ₃ L ⁻¹)	28,56	29,15	28,98	29,06	29,17
Dureza (mgCaCO ₃ L ⁻¹)	28	27	28,5	28,25	27,25
pH	7,26	7,24	7,23	7,24	7,24
Condutividade elétrica (mS cm ⁻¹)	0,10	0,11	0,11	0,11	0,11

No final do período experimental, os peixes de cada aquário foram contados obtendo-se a sobrevivência e em seguida anestesiados com eugenol (75mg L⁻¹) de acordo com Vidal et al., (2008) para serem pesados em uma balança analítica de precisão (0,01g) e medidos o comprimento total com um paquímetro digital (0,01mm). Também foram calculadas a biomassa (soma do peso dos peixes do aquário), fator de condição de $n K = 100 \times (\text{peso} \cdot \text{comprimento}^{-3})$, conversão alimentar ($\text{peso de dieta ofertada} \cdot \text{ganho de biomassa}^{-1}$), ganho de peso ($\text{peso final} - \text{peso inicial}$), ganho de peso diário ($\text{ganho de peso} \cdot \text{dias de experimento}^{-1}$) e a taxa de crescimento específica estimada pela equação: $\text{TCE} = 100 (\ln \text{Ptf} - \ln \text{Pti}) \Delta t^{-1}$, considerando Δt a duração em dias entre as amostragens, Pti o peso inicial e Ptf o peso final de cada repetição.

Um dia após a última biometria realizada após os 30 dias de experimentação, quatorze peixes de cada repetição foram separados em dois grupos com sete indivíduos cada, para serem submetidos a dois diferentes tipos de estresse agudo, estresse por salinidade e estresse por exposição ao ar.

No teste de salinidade foram distribuídos sete peixes aquário⁻¹ com 1 L de água salinizada (40 g.L⁻¹ de NaCl), onde foram mantidas e medido o tempo em que cada indivíduo começou a expressar comportamento desorientado, tombamento na coluna d'água. Após observados esses sinais, as pós-larvas foram alojadas em suas respectivas unidades experimentais para determinação da sobrevivência após 24h. A concentração de 40 g.L⁻¹ de NaCl foi preliminarmente determinada com experimento prévio para pós-larvas de tilápia por 10 min.

No outro teste de estresse, os peixes foram expostos ao ar durante 15 minutos sobre uma bancada com pano levemente umedecido, a fim de evitar possíveis lesões. Após esse período os animais foram realocados nas suas unidades experimentais e após 24h foi determinada a sobrevivência.

Todos os dados obtidos foram submetidos primeiramente a testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Bartlett). As variáveis que atendiam as pressuposições passaram por análise de variância (ANOVA) ao nível de probabilidade de 5% e, seguido de análise de regressão. Os dados de sobrevivência foram transformados em arco seno para análise estatística, mas são apresentados em porcentagens. As análises foram realizadas no software R[®].

4.3 Resultados

Para as variáveis de desempenho zootécnico, peso, comprimento total, ganho de peso, ganho de peso diário, biomassa, conversão alimentar, fator de condição de Fulton, e taxa de crescimento específico, os peixes alimentados com a dieta controle e suplementados com os diferentes níveis de alho desidratado em pó, não apresentaram tendência de diminuir ou aumentar em função do aumento da concentração de extrato de alho na dieta (Tabela 3). Da mesma forma não foram observadas alterações na porcentagem de sobrevivência durante os desafios de salinidade e exposição ao ar.

Tabela 3. Médias, desvios padrão, coeficientes de variação, p-valor e coeficientes de determinação dos parâmetros de desempenho zootécnico de pós-larvas de tilápia do Nilo alimentadas com dieta controle ou suplementada com diferentes níveis de inclusão de alho (*Allium sativum*) desidratado em pó (5, 10, 15 e 20 g kg⁻¹), durante 30 dias.

Parâmetros	0 g kg ⁻¹	5 g kg ⁻¹	10 g kg ⁻¹	15 g kg ⁻¹	20 g kg ⁻¹	CV(%)	p-value
Peso (g)	0,8272±0,11	0,8862±0,12	0,8879±0,12	0,8774±0,12	0,7610±0,13	14,41	0,4333
CT (cm)	3,40±0,11	3,44±0,14	3,35±0,08	3,45±0,14	3,27±0,22	4,41	0,4481
GP (g)	0,8126±0,11	0,8717±0,12	0,8731±0,12	0,8628±0,12	0,7471±0,13	14,66	0,4359
GPD (g)	0,027±0,003	0,029±0,004	0,028±0,004	0,028±0,004	0,024±0,004	14,90	0,4571
Biomassa (g)	13,66±1,27	13,84±1,95	16,05±3,60	13,47±3,90	14,77±0,57	15,96	0,2394
CA (g g⁻¹)	3,33±0,83	3,76±1,07	2,27±0,41	2,43±0,75	2,92±0,43	24,65	0,1098
K	2,08±0,15	2,14±0,12	2,34±0,18	2,12±0,14	2,14±0,07	6,99	0,3076
TCE (%)	2,70±0,38	2,90±0,43	2,91±0,42	2,87±0,42	2,49±0,45	14,66	0,4359
SS (%)	85±12,90	72,5±22,17	90±8,16	87,5±15,00	72,5±12,58	17,88	0,3368
SH (%)	30±21,60	32,5±32,01	52,5±18,92	55±5,77	27,5±27,53	51,83	0,1512

Valores médios submetidos a ANOVA e REGRESSÃO (p < 0,05).

Descrição das abreviações: CV – coeficiente de variação, R² – coeficiente de derivação, CT – comprimento total, GP – ganho de peso, GPD – ganho de peso diário, CA – conversão alimentar, K – fator de condição de Fulton, TCE – taxa de crescimento específico, SS – sobrevivência após teste de salinidade, SH – sobrevivência após teste de hipóxia.

A sobrevivência atingiu 95% quando as pós-larvas eram alimentadas com dieta aditivada com 10 g pó kg⁻¹ de dieta, atingindo o seu ponto máximo estimado de 92,81% com o nível de inclusão de 9,59g alho em pó.kg⁻¹ de dieta passando a reduzir a partir daí (Figura 1).

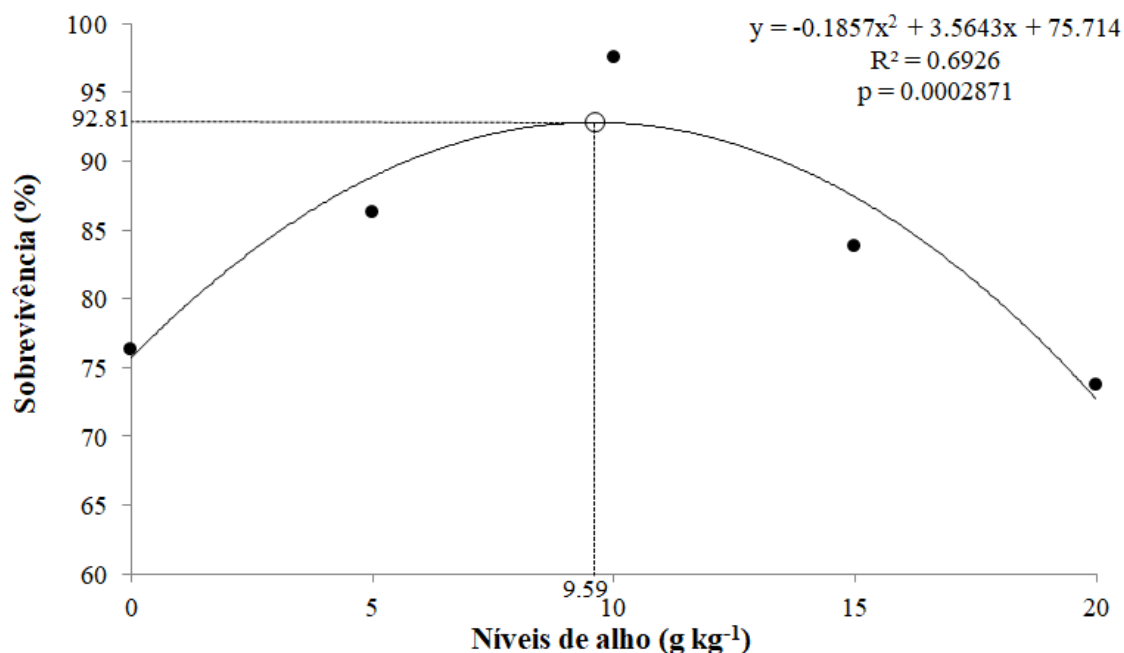


Figura 1. Variação da sobrevivência das pós-larvas de tilápia do Nilo em função da concentração de alho em pó acrescido na dieta, após 30 dias de cultivo. Valores médios submetidos a ANOVA e REGRESSÃO ($p < 0,05$).

4.4 Discussão

A taxa de sobrevivência das pós-larvas de tilápia do Nilo aumentou com a adição de alho em pó na dieta até a concentração de 10 g kg⁻¹ a partir do qual decresceu.

O alho pode agir positivamente na sobrevivência de peixes (DIAB et al., 2008, TALPUR e IKHWANUDDIN, 2012, GABRIEL et al., 2019 e SAMSON, 2019). Esse efeito positivo tem sido associado a alicina, um princípio ativo do alho que tem se mostrado benéfico a peixes tanto na sobrevivência (GABRIEL et al., 2019) como no crescimento (BÜYÜKDEVECI et al., 2018), proteção de substâncias tóxicas (ABDEL-DAIM et al., 2015) dentre outras.

Ainda tem de se considerar que as pós-larvas de tilápia do Nilo apresentam alta capacidade de digestão e absorção dos nutrientes dos alimentos na primeira alimentação, pois já na abertura da boca apresentam ao longo do trato digestório atividade das enzimas intestinais (maltase, leucina aminopeptidase, dipeptidil aminopeptidase IV, esterases não específicas e fosfatase alcalina) e lipase, observada a partir do terceiro dia pós-nascimento (TENGJAROENKUL et al., 2002). Tais características poderiam explicar a maior sobrevivência observada nas pós-larvas alimentadas com dieta acrescida de 10 g kg⁻¹ de alho em pó.

Similarmente, para juvenis do bagre africano *Clarias gariepinus* desafiados a condições de baixo pH com dieta suplementada com alho cru (0, 5, 10, 20 e 40 g kg⁻¹) a probabilidade de sobrevivência aumentou até o valor de acréscimo de 20 g kg⁻¹, a partir do qual decaiu, sendo que os submetidos a dieta controle (0,0 g kg⁻¹) apresentaram a menor taxa de sobrevivência (GABRIEL et al., 2019). Para a tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.), a taxa de sobrevivência dos peixes alimentados com a suplementação de 15 g kg⁻¹ de alho em pó foi superior a dos animais recebendo dieta controle, sem suplementação de alho (SAMSON, 2019). Apesar do autor não ter aplicado uma regressão aos dados, os valores de sobrevivência também apontam para um crescimento da sobrevivência, seguido de um decréscimo, 20b, 47ab, 60a e 43%ab, para os níveis de inclusão de alho de 0, 10, 15 e 20 g kg⁻¹, respectivamente, demonstrando que 15 g kg⁻¹ influenciou positivamente na sobrevivência.

A sobrevivência das tilápias do Nilo após o desafio com *Pseudomonas fluorescens* também foi maior nos grupos que receberam alho acrescido à dieta (25, 75, 75 e 91,7% de sobrevivência para os níveis de 0, 10, 20 e 30 g kg⁻¹, respectivamente) (DIAB et al., 2008). Talpur e Ikhwanuddin (2012) também observaram aumento na sobrevivência após inclusão de alho na dieta de juvenis de perca gigante (*Lates calcarifer*), mesmo não encontrando diferenças entre as dosagens (5, 10, 15 e 20 g kg⁻¹) utilizadas. Para *Dicentrarchus labrax* a suplementação de alho em pó na dieta (0, 10, 20 e 30 g kg⁻¹) proporcionou uma sobrevivência de 97.5, com a adição de 30 g kg⁻¹ (SALEH et al., 2015).

Contrariamente, para alevinos de tilápia o extrato de alho em pó (0, 10, 20, 30 e 40 g kg⁻¹) não interferiu na sobrevivência (SHALABY et al., 2006), o mesmo foi observado para o robalo japonês *Lateolabrax japonicus* alimentados com diversos níveis de inclusão do alho (0, 5, 10, 15, 20 e 25 g kg⁻¹) na dieta (XU et al., 2020). Contudo, para juvenis de tilápia do Nilo (20 a 21 g) não apresentaram mortalidade após adição de óleo essencial de alho (METWALLY, 2009). Os trabalhos acima sugerem que as concentrações adequadas dependem da forma de que o alho é adicionado à dieta e da espécie animal.

Durante as duas simulações de estresse agudo, a primeira com alta concentração salina, e a segunda com exposição ao ar, não foram observadas diferenças entre os grupos suplementados com alho em pó e o grupo controle.

Uma das propriedades do alho é sua capacidade imunoestimulante (NYA e AUSTIN, 2009; NYA et al., 2010; NDONG e FALL, 2011; AWAD e AWAAD, 2017), antioxidante (RAHMAN et al., 2012) e de aumentar a concentração de hemoglobina corpuscular (SHALABY et al. 2006), permitindo que os animais tenham uma maior resistência durante um período de estresse, o que poderia resultar em uma maior taxa de sobrevivência dos

animais submetidos a estresse. No entanto, não foi verificado diferença na sobrevivência entre os tratamentos. Portanto, a similaridade observada entre os resultados pode ser explicada pela rusticidade e adaptabilidade, características das espécies do gênero *Oreochromis*, já que a espécie possui resistência natural a baixas concentrações salinas, podendo inclusive ser cultivada em água salobra. (SAHA e KHATUN, 2014, ABDELRHMAN et al., 2020)

Em situações de estresse, substâncias são produzidas para reduzir o estresse oxidativo e regular as atividades celulares pertencentes a respiração (WELKER et al., 2013) o que explica os níveis de sobrevivência não terem sofrido influência dos tratamentos após o estresse agudo por exposição ao ar.

As variáveis de crescimento, peso, comprimento total, biomassa final, ganhos de peso final e diário, assim como a conversão alimentar aparente e taxa de crescimento específico não foram afetados pelos níveis crescentes de alho (*Allium sativum*) desidratado em pó.

Os promotores de crescimento possuem efeito dose-dependente, assim sendo sua ação sobre o sistema digestivo e consequentemente sobre o crescimento do animal, depende da concentração do princípio ativo ao qual o animal está sendo submetido (HARIKRISHNAN et al., 2011; CAMPAGNOLO et al., 2013).. Além disso, pós-larvas apresentam uma menor capacidade de assimilar alimento, por estarem na fase inicial de desenvolvimento.

Portanto, apesar das pós-larvas de tilápia do Nilo poderem se alimentar da dieta logo ao abrir a boca, elas ainda estão em formação, o que inclui o sistema digestório (TENGJAROENKUL et al., 2002). Por fim, apesar da capacidade de assimilar dieta, observada neste experimento, o intestino em evolução apresenta uma menor capacidade de absorção o que explica a não diferenciação dos parâmetros de desenvolvimento das pós-larvas alimentadas com as rações com diferentes níveis de adição de alho.

Outro aspecto, ainda relacionado ao tamanho do trato digestório é que, conforme o peixe vai se desenvolvendo, aumenta o volume do trato levando a uma maior diversidade da sua microbiota, que é determinante para uma melhor capacidade de nutrição e desenvolvimento do peixe, como observado para o peixe zebra *Danio rerio* (YAN et al., 2012). Deve-se ainda considerar que pós-larvas apresentam uma superfície para fixação da microbiota no trato digestório proporcionalmente mais curta do que nas fases mais desenvolvidas. Segundo Tengjaroenkul (2002), o intestino da tilápia do Nilo muda de um tubo intestinal curto e reto na eclosão para um padrão de enrolamento muito complexo e, nove semanas após, o comprimento do intestino aumenta de 90% para 410% do comprimento do corpo, proporcionando aos peixes uma vantagem na digestão e absorção dos nutrientes.

Resultados semelhantes aos do presente estudo foram registrados para tilápias do Nilo (3,5 g) alimentadas por três meses, no período do verão com dieta enriquecida com alho triturado (0, 10, 20 e 30 g kg⁻¹) não sendo observado mudanças no crescimento (DIAB et al., (2008). Tilápias vermelhas (*Oreochromis* sp.) (7,36 g) alimentados por seis semanas com dietas com crescentes níveis de inclusão de alho em pó (0, 10, 15 e 20 g kg⁻¹), também não apresentaram diferença no crescimento entre os peixes (SAMSON, 2019).

Outros trabalhos também relatam que o uso de doses mais elevadas de alho, resulta em maior crescimento, alteram a composição corporal e melhoram a saúde de juvenis (5,06 g) de tilápia do Nilo (MAHMOUD e ILHAIS, 2017). O extrato de alho em pó também melhorou o desempenho de alevinos (7,07 g) de tilápia (SHALABY et al., 2006). Carpas também suplementadas com extrato de alho responderam de maneira positiva a exposição de níveis altos de nitrogênio amoniacal quando recebem 1 e 1,5 g kg⁻¹ de alho em pó (YOUSEFI et al., 2020). XU et al (2020) também encontraram vantagens no uso do alho (0, 5, 10, 15, 20 e 25 g kg⁻¹) para diversos parâmetros observados, cujo resultado corrobora com este experimento, sugerindo a dosagem de 10 g kg⁻¹ para exemplares de rolabo japonês (*L. japonicas*).

4.5 Conclusão

A adição de 10 g de alho em pó kg⁻¹ de dieta nos primeiros 30 dias de cultivo de pós-larva da tilápia do Nilo aumenta a sobrevivência dos animais.

4.6 Referências

- Abdel-Daim, M. M., Abdelkhalek, N. K., e Hassan, A. M., 2015. Antagonistic Activity of Dietary Allicin Against Deltamethrin-induced Oxidative Damage in Freshwater Nile Tilapia; *Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 111, 146-152. doi:10.1016/j.ecoenv.2014.10.019
- Abdelrhman, M. A., Sharawy, Z., Goda, M. A. S. A., Slater, J. M. R., 2020. Adaptability of the Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* Juveniles to Water Salinity by Controlling Dietary Sodium Chloride Levels. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 24, 225-237. doi:10.21608/EJABF.2020.86056
- Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M.H., Seden, M.E.A., Sakr, S.F., 2010. Use of Green Tea, *Camellia sinensis*, L., in Practical diet for Growth and Protection of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), Against *Aeromonas hydrophila* Infection. *Journal of the World Aquaculture Society* 41, 203-213. doi:10.1111/j.1749-7345.2010.00360.x.
- Andrade, T. J. V., Sousa, F. A., Morais, C. R., 2017. Avaliação do Florfenicol como Tratamento Preventivo de Doenças Bacterianas no Cultivo de Tilápias em Sistema Superintensivo. *Revista Getec*, 6, 3-25.
- Awad, E., Awaad, A., 2017. Role of Medicinal Plants on Growth Performance and Immune Status in Fish. *Fish Shellfish Immunology* 67, 40-54.
- Azevedo, R. V., Filho, J. C. F., Pereira, S. L., Cardoso, L. D., Júnior, M. V. V. Andrade, D. R., 2016. Prebiotic, Probiotic and Synbiotic Supplementation in Diets for Juvenile Tambaquis at Two Stocking Densities. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 51, 9-16.
- Block, E., 1992. The Organosulfur Chemistry of the Genus *Allium* – Implications for the Organic Chemistry of Sulfur. *Angewandte Chemie International Edition*. 31, 1135 – 1178.
- Büyükdeveci, M. E., Balcázar, J. L., Demirkale, I., Dikel, S., 2018. Effects of Garlic-Supplemented Diet on Growth Performance and Intestinal Microbiota of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 486, 170-174.
- Campagnolo, R., Freccia, A., Bergmann, R. R., Meurer, F., Combardelli, R. A., 2013. Óleos Essenciais na Alimentação de Alevinos de Tilápia do Nilo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 13, 565-573.
- Cho, S. H., Lee, S. M., 2012. Onion Powder in the Diet of the Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*: Effects on the Growth, Body Composition, and Lysozyme Activity. *Journal of the World Aquaculture Society* 43, 30-38.

- Costa, F. T. M., Reis, F. R. C., Santos, J. M. S., Maciel, S. M., Biserra, T. S., Moreira, R. L., Farias, W. R. L., 2011. *Chlorella* sp. como suplemento alimentar durante a larvicultura de tilápia do Nilo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 12, 1103-1115.
- Dantas-Filho, J. V., Cavali, J., Nóbrega, B. A., Porto, M. O., 2020. Benefícios da Adição da Virginiamicina ao Desenvolvimento de Peixes de Cultivo e ao Meio Ambiente: uma Revisão. *Revista Ciência e Saúde Animal*. 2, 22-37.
- Diab, A. S., Aly, S. M., John, G., Abde-Hadi, Y., Mohammed, M. F., 2010. Effect of Garlic, Black Seed and Biogen as Immunostimulants on the Growth and Survival of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae), and their Response to Artificial Infection with *Pseudomonas fluorescens*. *African Journal of Aquatic Science*. 33, 63-68. doi:10.2989/AJAS.2007.33.1.7.391
- Dikel, S. (2015). Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Büyüme Artırıcı Olarak Sarımsak (*Allium sativum*) Kullanımı. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi* 3, 529-536.
- FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. doi:10.4060/ca9229en
- Freccia, A., Sousa, S. M. N., Meurer, F., Butzge, A. J., Mewes, J. K., Bombardelli, R. A., 2014. Essential Oils in the Initial Phase of Broodstock Diets of Nile Tilapia. *Revista Brasileira de Zootecnia* 43, 1-7.
- Furuya, W. M. F. 2010. (Ed.). Tabelas Brasileiras para a Nutrição de Tilápias. GFM.
- Gabriel, N. N., Wilhelm, M. R., Habte-Tsion, H. M., Chimwamurombe, P., Omoregie, E., 2019. Dietary Garlic (*Allium sativum*) Crude Polysaccharides Supplementation on Growth, Haematological Parameters, whole Body Composition and Survival at Low Water pH Challenge in African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. *Scientific African*, 5, e00128. doi:10.1016/j.sciaf.2019.e00128
- Guerrero, R.D. III 1982. Control of Tilapia Reproduction. In: Pullin, R.S.V. (Ed.). *The Biology and Culture of Tilapias*. Manila: ICLAM.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S., 2011. Impact of Plant Products on Innate and Adaptive Immune System of Cultured Finfish and Shellfish. *Aquaculture* 317, 1-15.
- Lee, J. Y., Gao, Y., 2012. Review of the Application of Garlic, *Allium sativum*, in Aquaculture. 43, 447-458.
- Lima, K. S., Cipriano, F. S., Oliveira-Júnior, F. M., Tonini, W. C T., Souza, R. H. B., Simões, I. G. P. C., Braga, L. G. T., 2015. Performance and Hematological Variables of Piavuçu whose Diets were Supplemented with Phytobiotic and Probiotic Additives. *Semina: Ciências Agrárias* 36, 2881-2892.

- Mahmoud, H. K., El-Hais, A., 2017. Effect Of Dietary Garlic (*Allium sativum*) Supplementation On Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* Juveniles Performance Under Two Stocking Denisties. Egyptian Journal of Nutrition and Feeds, 20, 115-124.
- Mercante, C. T. J., do Carmo, C. F., Rodrigues, C. J., Osti, J. A. S., Mainardes Pinto, C. S., Vaz-dos-Santos, A. M., Tucci, A., Di Genaro, A. C. (2018). Limnologia de Viveiro de Criação de Tilápias do Nilo: Avaliação Diurna Visando Boas Práticas de Manejo. Boletim do Instituto de Pesca, 37, 73-84.
- Metwally., M. A. A., 2009. Effects of Garlic (*Alluim sativum*) on Some Antioxidant Activities in Tilapia Nilotica (*Oreochromis niloticus*). World Journal of Fish and Marine Sciences 1, 56-64.
- Militiz, T. A., Southgate, P. C., Carton, A. G., Hutson, K. S., 2013. Dietary Supplementation of Garlic (*Allium sativum*) to Prevent Monogenean Infection in Aquaculture. Aquaculture 408-409, 95-99.
- Ndong, D., Fall, J., 2011. The Effect of Garlic (*Allium sativum*) on Growth and Immune Responses of Hybrid Tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*). Journal Clinical Immunology. Immunopathol. Res. 3, 1-9.
- Nya, E. J., Austin, B., 2009. Use of Garlic, *Allium sativum*, to Control *Aeromonas hydrophila* Infection in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases. 32, 963-970.
- Nya, E.J.; Dawood, Z.; Austin, B., 2010. The Garlic Component, Allicin Prevents Disease Caused by *Aeromonas hydrophilain* Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases 33.293-30.
- Official methods of analysis of AOAC International. Rockville, MD: AOAC International, ISBN: 978-0-935584-87-5
- Rahman, M. M., Fazlic, V., & Saad, N. W., 2012. Antioxidant Properties of Raw Garlic (*Allium sativum*) Extract. International Food Research Journal, 19, 589-591.
- Reda, M. R., Ibrahim. E. R., Ahmed, G. N-EL., El-bouhy, M. Z., 2013. Effect of Oxytetracycline and Florfenicol as Growth Promoters on the Health Status of Cultured *Oreochromis niloticus*. The Egyptian Journal of Aquatic Research 39, 241-248.
- Saha, S. B., Khatun, M. S., 2014. Production Performances of Monosex Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* in Brackishwater Ponds. Bangladesh Journal of Zoology, 42, 261-269. doi:10.3329/bjz.v42i2.23368

- Saleh, N. E., Michael, F. R., Toutou, M. M., 2015. Evaluation of Garlic and Onion Poder as Phyto-additives in the Diet of Sea Bass (*Dicentrarcus labrax*). Egyptian Journal of Aquatic Research 41, 211-217.
- Samson, J. S., 2019. Effect of Garlic (*Allium sativum*) Supplementes Diets on Growth, Feed Utilization and Survival of Red Tilapia (*Oreochromis* sp.) International Journal of Agricultural Technolohy 15, 637-644.
- Santhosha, S.G., Prakash, Jamuna, Prabhavathi, S.N., 2013. Bioactive Components of Garlic and Their Physiological Role in Health Maintenance: a Review. Food Bioscience 3, 59-74.
- Shalaby, A.M., Khattab, Y.A., Abdel Rahman, A.M., 2006. Effects of Garlic (*Allium sativum*) and Chloramphenicol on Growth Performance, Physiological Parameters and Survival of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal Venomous Animals and Toxins 12, 172–201.
- Silva, E. F. B., Froés, C. N., Souza, D. M., Soares, R., Peixoto, S., Wasielesky, W., Ballester, E. L. C., 2012. Uso de Probióticos na Produção de Pós-larvas de Camarão-rosa. Pesquisa Agropecuária Brasileira 47, 869-874.
- Syahidah, A., Daud, H. M., Abdelhadi, Y. M., 2015. Status and Potential of Herbal Applications in Aquaculture: a Review. Iranian Journal of Fisheries Sciences 14, 27-44.
- Talpur A. D., 2014. *Mentha piperita* (Peppermint) as Feed Additive Enhanced Growth Performance, Survival, Immune Response and Disease Resistance of Asian Seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) Against *Vibrio harveyi* Infection. Aquaculture 420-421, 71- 78. doi:10.1016/j.aquaculture.2012.07.035.
- Talpur, A. D., Ikhwanuddin, M., 2012. Dietary Effectss of Garlic (*Allium sativum*) on Haemato-immunological Parameters, Survival, Growth, and Disease Resistance Against *Vibrio harveyi* Infection in Asian Sea Bass, *Lates calcarifer* (Bloch). Aquaculture 364-365, 6-12.
- Talpur, A.D., Ikhwanuddin, M., Ambok Bolong, A.-M., 2013. Nutritional Effects of Ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) on Immune Response of Asian Sea Bass, *Lates calcarifer* (Bloch) and Disease Resistance Against *Vibrio harveyi*. Aquaculture 400–401, 46–52
- Tengjaroenkul, B., Smith, B. J., Smith, S. A., & Chatreewongsin, U., 2002. Ontogenic Development of the Intestinal Enzymes of Cultured Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* L. Aquaculture, 211, 241-251. doi:10.1016/S0044-8486(01)00888-2
- Traesel, C. K.; Wolkmer, P.; Schmidt, C.; Silva, C. B.; Paim, F. C.; Rosa, A. P.; Alves, S. H.; Santurio, J. M. and Lopes, S. T. A. 2011. Serum Biochemical Profile and Performance of Broiler Chickens Fed Diets Containing Essential Oils and Pepper. Comparative Clinical Pathology 20:453-460.

- Vidal, L. V. O., Albinat, R. C. B., Albinati, A. C. L., Lira, A. D., Almeida, T. R., Santos, G, B., 2008. Eugenol como Anestésico para Tilápia do Nilo. Pesquisa Agropecuária Brasileira 43, 1069-1074. doi:10.1590/S0100-204X2008000800017
- Welker, A. F., Moreira, D. C., Campos, É. G., Hermes-Lima, M. , 2013. Role of Redox Metabolism for Adaptation of Aquatic Animals to Drastic Changes in Oxygen Availability. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, v. 165, 384-404.
- Xu, A., Shang-Guan, J., Li, Z., Gao, Z., Huang, Y., Chen, Q., 2020. Effects of Garlic Powder on Feeding Attraction Activity, Growth and Digestive Enzyme Activities of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. Aquaculture Nutrition 0, 1-10.
- Yan, Q., Van Der Gast, C. J., Yu, Y., 2012. Bacterial Community Assembly and Turnover Within the Intestines of Developing Zebrafish. PLoS One, 7, e30603. doi:10.1371/journal.pone.0030603
- Yilmaz, E., Ergün, S., Yilmaz, S., 2015. Influence of Carvacrol on the Growth Performance, Hematological, Non-specific Immune and Serum Biochemistry Parameters in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Food and Nutrition Sciences 6, 523-531.
- Yousefi, M., Vatnikov, Y. A., Kulikov, E. V., Plushikov, V. G., Drukovsky, S. G., Hoseinifar, S. H., Doan, H. V., 2020. The Protective Effects of Dietary Garlic on Common Carp (*Cyprinus carpio*) Exposed to Ambient Ammonia Toxicity. Aquaculture 526, 735400 doi:10.1016/j.aquaculture.2020.735400

ARTIGO II:

5 PARÂMETROS FISIOLÓGICOS, HISTOLÓGICOS E ZOOTÉCNICOS DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO RECEBENDO DIETA COM ALHO EM PÓ (*ALLIUM SATIVUM*) DURANTE O INVERNO

5.1 Introdução

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), é a espécie mais produzida no país (432,149 t) (PEIXEBR, 2020) e a segunda no mundo (4 525.4 mil t) em 2018 (FAO, 2020). Esse crescimento decorre das características produtivas (VICENTE E FONSECA-ALVES, 2013), procura pelo mercado (GOMES et al., 2018) e seu pacote tecnológico (RODRIGUES et al., 2015). Uma das formas para atingir esse fim é pela inclusão, na dieta, de aditivos de origem vegetal capazes de melhorar o apetite e ganho de peso, aumentar a resistência imunológica a agentes patológicos presentes no meio aquático, e a tolerância a manipulação durante o cultivo, com consequentemente maior desempenho produtivo (REVERTER et al., 2014).

A adição de extratos secos ou óleos essenciais de planta, também chamados de alimentos funcionais, fitoterápicos ou imunoestimulantes, têm apresentado bons resultados na criação de peixes (TALPUR e IKHWANUDDIN et al., 2012; FELICITTA et al., 2013; YILMAZ et al., 2013; MORAES et al., 2014; TALPUR 2014; OZ, 2018; YOUSEFI et al., 2020). Esses aditivos possuem princípios ativos, que lhes dão as características que permitem sua utilização como promotores de crescimento (CHAKRABORTY e HANCZ, 2011; AWAD e AWAAD, 2017).

O alho *A. sativum*, de origem asiática é rico em vitaminas A, B1, B2, B6 e C e em minerais (KOHLMUNZER, 1993; SHUKLA e KALRA, 2007), tem sido empregado na culinária e na homeopatia humana (KOPEC et al., 2013). Esse bulbo possui propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes, palatabilizantes, hepatoprotetoras, imunoestimulantes e antivirais (SHALABY et al., 2006; SANTHOSHA et al., 2013; TALPUR e IKHWANUDDIN, 2012; SYAHIDAH et al., 2015) devido a presença de compostos oligosulfurados, ajoeno, tiosulfatos e principalmente a alicina (BLOCK, 1992; DIAB et al., 2008; NYA et al., 2010), que confere ao alho seu odor e sabor característico (WILLIAMSON, 2003). Tais características permitem que o alho seja classificado como aditivo alimentar.

Em peixes, o alho tem se mostrado capaz de estimular o apetite, melhorar a conversão alimentar, aumentar a eficiência alimentar e o ganho de peso (TALPUR e IKHWANUDDIN,

2012; LIMA et al., 2015; SALEH et al., 2015; DIKEL, 2015; BÜYÜKDEVECİA et al., 2018; GABRIEL et al., 2019), proporcionar maior resistência a infecções bacterianas (THANIKACHALAM et al., 2010; TALPUR e IKHWANUDDIN, 2012; MILITZ et al., 2013; MEHRIM et. al. 2014, GABRIEL et al., 2019), além de alterar a sobrevivência, a proporção e quantidade das células sanguíneas (MEHRIM et. al. 2014, MAHMOUD e EL-HAIS, 2017) e de se mostrar um efetivo antioxidante (METWALLY 2009).

Assim, o objetivo com este trabalho foi avaliar o efeito da suplementação de níveis de alho (*Allium sativum*) na dieta sobre o desempenho zootécnico, parâmetros sanguíneos e histológicos de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

5.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Aquacultura e Ecologia Aquática da Universidade Federal dos Vales de Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), campus JK, em Diamantina - MG, (1387 m de altitude; 18° 10' S, 43° 30' W) durante 60 dias. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFVJM (n° 031/2019).

Juvenis de tilápia do Nilo (200) com peso inicial de $5,0 \pm 1,73$ g e comprimento de $6,4 \pm 0,81$ cm, foram alojados em 20 aquários (100 L), mantidos em sistema de recirculação, com aeração constante e fotoperíodo controlado (12 horas de luz e 12 horas de escuridão) na densidade de 1 peixe L⁻¹, 10 peixes aquário⁻¹. A temperatura foi mantida através do uso de resistência em torno de 20°C. Os juvenis foram aclimatados às condições de ambiente por sete dias antes do início do experimento.

Os peixes foram alimentados com uma dieta comercial base (SUPRA[®]) (Tabela 4) com cinco adições de alho desidratado em pó (Adicel[®]) (0, 5, 10, 15 e 20 g kg⁻¹), em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições.

O alho em pó foi diluído em álcool etílico absoluto e adicionado por aspersão “on top” à dieta durante a mistura dos ingredientes. Após a mistura, foi realizada a peletização da dieta. Os pellets foram secos em estufa a 40°C e armazenados sob refrigeração.

O arraçamento foi realizado quatro vezes ao dia (8, 11, 15 e 18h) até a saciedade aparente dos animais (*ad libitum*) sendo retiradas as sobras e pesadas, para calcular a conversão alimentar.

Tabela 4. Composição alimentar e bromatológica da dieta comercial base

Componentes	Dietas				
	0 g kg ⁻¹	5 g kg ⁻¹	10 g kg ⁻¹	15 g kg ⁻¹	20 g kg ⁻¹
Ração Comercial (g)	1000	1000	1000	1000	1000
Alho desidratado em pó (g)	0	5	10	15	20
Composição Química (%)					
Matéria Seca (%)	91,0	91,7	91,2	91,4	91,3
Matéria Orgânica (%)	85,8	85,6	85,9	85,4	85,5
Matéria Mineral (%)	11,1	11,4	11,1	11,4	11,2
Proteína Bruta (%)	48,7	48,5	48,3	48,5	48,0
Extrato Etéreo (%)	6,2	6,5	6,9	6,6	6,4
Fibra Bruta (%)	1,5	1,5	1,8	1,9	1,7
Carboidrato não Fibroso (%)	30,5	30,1	30,9	30,6	30,4

Para limpeza dos aquários, todos os dias eram renovados 20% do volume de cada, removendo assim resíduos e excesso de matéria orgânica. Semanalmente os parâmetros da água; temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica, foram medidos através da sonda multiparâmetros (Horiba W-22XDD) e as análises de amônia, nitrito, nitrato, fosfato alcalinidade e dureza foram realizadas de acordo com a metodologia descrita em APHA (2012) para monitoramento e manutenção no ambiente experimental, todos os parâmetros limnológicos, exceto a temperatura foram mantidos dentro dos padrões (Tabela 5).

Tabela 5. Parâmetros físico-químicos mantidos no ambiente experimental dos tratamentos

Níveis (g kg ⁻¹)	0g kg ⁻¹	5g kg ⁻¹	10g kg ⁻¹	15g kg ⁻¹	20g kg ⁻¹
Oxigênio Dissolvido (mg L⁻¹)	7,23	7,24	7,24	7,27	7,29
Temperatura (°C)	20,4	20,4	20,5	20,5	20,5
Amônia (mg L⁻¹)	0,203	0,126	0,197	0,226	0,189
Nitrito (mg L⁻¹)	0,038	0,032	0,039	0,037	0,036
Nitrato (mg L⁻¹)	0,513	0,616	0,569	0,528	0,646
Fosfato (mg L⁻¹)	0,488	0,400	0,485	0,443	0,405
Alcalinidade (CaCO₃ mg L⁻¹)	28,34	28,57	28,48	29,14	29,95
Dureza (CaCO₃ mg L⁻¹)	46,4	47	43,6	41,8	41,6
pH	5,72	5,71	5,64	5,55	5,53
Condutividade elétrica (mS cm⁻¹)	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13

No final do período experimental, todos os juvenis de cada aquário foram contados afim de, e obter a sobrevivência e em seguida anestesiados com solução de eugenol (75mg L⁻¹) seguindo as recomendações descritas por Vidal et al. (2008) para serem pesados em uma balança analítica de precisão (0,01 g) e medidos os comprimentos total e padrão com um

paquímetro digital (0,01 mm). A partir dos valores coletados foram calculadas as seguintes variáveis: biomassa (soma do peso dos peixes do aquário), fator de condição de Fulton $K = 100 \times (\text{peso} \cdot \text{comprimento}^{-3})$, conversão alimentar $((\text{peso de dieta ofertada} - \text{peso da sobra de dieta}) \cdot \text{ganho de biomassa}^{-1})$, ganho de peso $(\text{peso final} - \text{peso inicial})$, ganho de peso diário $(\text{ganho de peso} \cdot \text{dias de experimento}^{-1})$ e a taxa de crescimento específica estimada pela expressão: $TCE = 100 (\ln P_{t_f} - \ln P_{t_i}) \Delta t^{-1}$, considerando Δt a duração em dias entre as amostragens, P_{t_i} o peso inicial e P_{t_f} o peso final de cada repetição.

Após biometria, dois peixes de cada repetição foram submetidos a coleta sanguínea, previamente anestesiado com solução de eugenol (75 mg L^{-1}) conforme recomendado por Vidal et al. (2008) e contidos com pano úmido para análises de perfil bioquímico, imunológico e hematológico dos juvenis. Para a amostragem sanguínea, foram utilizadas seringas de 1ml e tubos para coleta sanguínea a vácuo com EDTA K3. A coleta foi feita diretamente na artéria vertebral por acesso caudal.

Foram preparadas extensões sanguíneas coradas com a técnica May-Grunwald-Giemsa, para contagem e diferenciação de leucócitos. Dentre o total dos leucócitos, foram diferenciados, linfócitos, neutrófilos, monócitos, basófilos e eosinófilos. A contagem foi realizada com o auxílio de microscópio óptico com objetiva no aumento de 1000 vezes, sendo realizada a contagem diferencial em “zigzag” por toda a extensão sanguínea, sendo calculada posteriormente a porcentagem de cada célula.

Para a contagem total de eritrócitos, primeiramente foi realizada a diluição 1:200 usando solução de cloreto de sódio 0,9% para em seguida ser realizada a contagem em câmara de Neubauer ($\times 10^6/\mu\text{L}^{-1}$). A determinação da taxa de hemoglobina foi determinada através da técnica de cianometahemoglobina (COLLIER, 1944), utilizando protocolo realizado pelo kit comercial Bioclin®, onde 10 μL de sangue são adicionados em 2,5ml de reagente contendo Tampão Fosfato 200 mmol/L, Ferricianeto de Potássio 120 mmol/L, Cianeto de Potássio 150 mmol/L e surfactante. Após reação as leituras foram feitas em espectrofotômetro com comprimento de onda igual a 540nm.

Para a determinação do hematócrito foi utilizada a técnica de microhematócrito, de acordo com Goldenfarb et al. (1971), a partir de tubos capilares, preenchidos com aproximadamente 2/3 de sangue previamente homogeneizado. Estes tubos capilares foram centrifugados durante 15 minutos a 10000rpm e a leitura realizada no cartão apropriado, igualando o menisco do plasma com a linha superior da régua (linha 100) e a mesma, sendo igualada a extremidade inferior da porção eritrocitária com a linha inferior da régua (linha

zero), de modo que o resultado indique o valor da linha. Para a mensuração dos níveis glicêmicos foi utilizado Kit comercial On Call Plus II®.

Após a coleta sanguínea esses mesmos indivíduos foram eutanasiados de acordo com as recomendações de Vidal et al., (2008) para coleta do tubo digestório.

As amostras foram fixadas em solução de Bouin por 24 horas. Os materiais fixados passaram por lavagem em álcool 70% para desidratação em série alcoólica crescente, diafanização em série de xilóis, inclusão em parafina histológica e foram feitos cortes com espessura de 5 a 7 μm . Foram confeccionadas uma lâmina para cada repetição. A coloração das lâminas foi realizada pela técnica Hematoxilina-Eosina. O material foi analisado e fotodocumentado em fotomicroscópio. Foi realizada a mensuração da altura de 5 vilosidades intestinais por lâmina por meio do software ImageJ (versão 1.53h 2021). Após as medições, as alturas das vilosidades foram agrupadas em três classes de altura denominada de pequena (≤ 250 mcp), mediana (251 – 500 mcp) e alta (≥ 501 mcp).

Um dia após a última biometria, quatro peixes de cada repetição foram submetidos a estresse agudo, por salinidade. Esses animais foram alojados aquários contendo 4 L de água salinizada (40 g.L⁻¹ de NaCl), onde foram mantidos e medido o tempo em que cada indivíduo começou a expressar comportamento desorientado, tombamento na coluna d'água. Depois da exposição à alta salinidade, os juvenis foram retornados às unidades experimentais e após 24 h foi determinada a sobrevivência. A concentração de 40 g L⁻¹ de NaCl foi determinada através de um experimento prévio.

Após 24 horas da contagem de sobrevivência do primeiro teste de estresse agudo, os mesmos quatro animais de cada repetição foram submetidos a um segundo teste de estresse agudo por exposição ao ar. Os peixes foram expostos ao ar durante 15 minutos, sobre uma bancada com pano levemente umedecido, a fim de evitar possíveis lesões. Após esse período, os animais foram realocados nas suas unidades experimentais e após 24 h foi determinada a sobrevivência.

Todos os dados obtidos foram submetidos primeiramente a testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Bartlett). As variáveis que atendiam as pressuposições passaram por análise de variância (ANOVA) ao nível de probabilidade de 5% e, seguido de análise de regressão. Os dados de sobrevivência foram transformados em arco seno para análise estatística, mas são apresentados em porcentagens. As análises foram realizadas no software R®.

5.3 Resultados

Para as variáveis de desempenho zootécnico, comprimento padrão final, biomassa final, conversão alimentar, os peixes alimentados com a dieta controle e suplementados com os diferentes níveis de alho desidratado em pó, não apresentaram tendência de diminuir ou aumentar em função do aumento da concentração de extrato de alho na dieta (Tabela 6).

Tabela 6. Médias, desvios padrão, coeficientes de variação e p-valor dos parâmetros de desempenho zootécnico de juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com dieta suplementada com diferentes níveis de alho desidratado em pó (níveis de alho) (0, 5, 10, 15 e 20 g kg⁻¹), durante 60 dias.

Níveis (g kg ⁻¹)	CP (cm)	Biomassa (g)	CA (g g ⁻¹)
0	5,70 ± 0,29	89,14 ± 10,3	5,54 ± 1,12
5	5,84 ± 0,15	100,87 ± 33,2	4,53 ± 1,45
10	6,08 ± 0,11	151,66 ± 24,1	5,38 ± 1,35
15	6,04 ± 0,44	110,35 ± 42,8	5,23 ± 1,01
20	5,62 ± 0,24	96,09 ± 27,6	5,50 ± 0,87
CV (%)	4,67	27,01	22,62
p-value	0,1238	0,0647	0,7511

As médias não diferem na mesma linha: ANOVA (p < 0,05).

Descrição das abreviações: CP – comprimento padrão, CA – conversão alimentar

Os demais parâmetros de crescimento dos juvenis inicialmente apresentaram valores estimados crescentes até atingirem os números máximos de 21,22 g para o peso, 10,2 cm para o comprimento total, 16,22 g para o ganho de peso, 0,260 g para o ganho de peso diário, 2,06 para o fator de condição de Fulton e 27,07% para a taxa de crescimento específica, nos níveis de 11,82; 10,30; 10,32; 10,70; 12,02 e 10,97 g kg⁻¹ de alho em pó na dieta, respectivamente, a partir do qual decaíram (Figura 2).

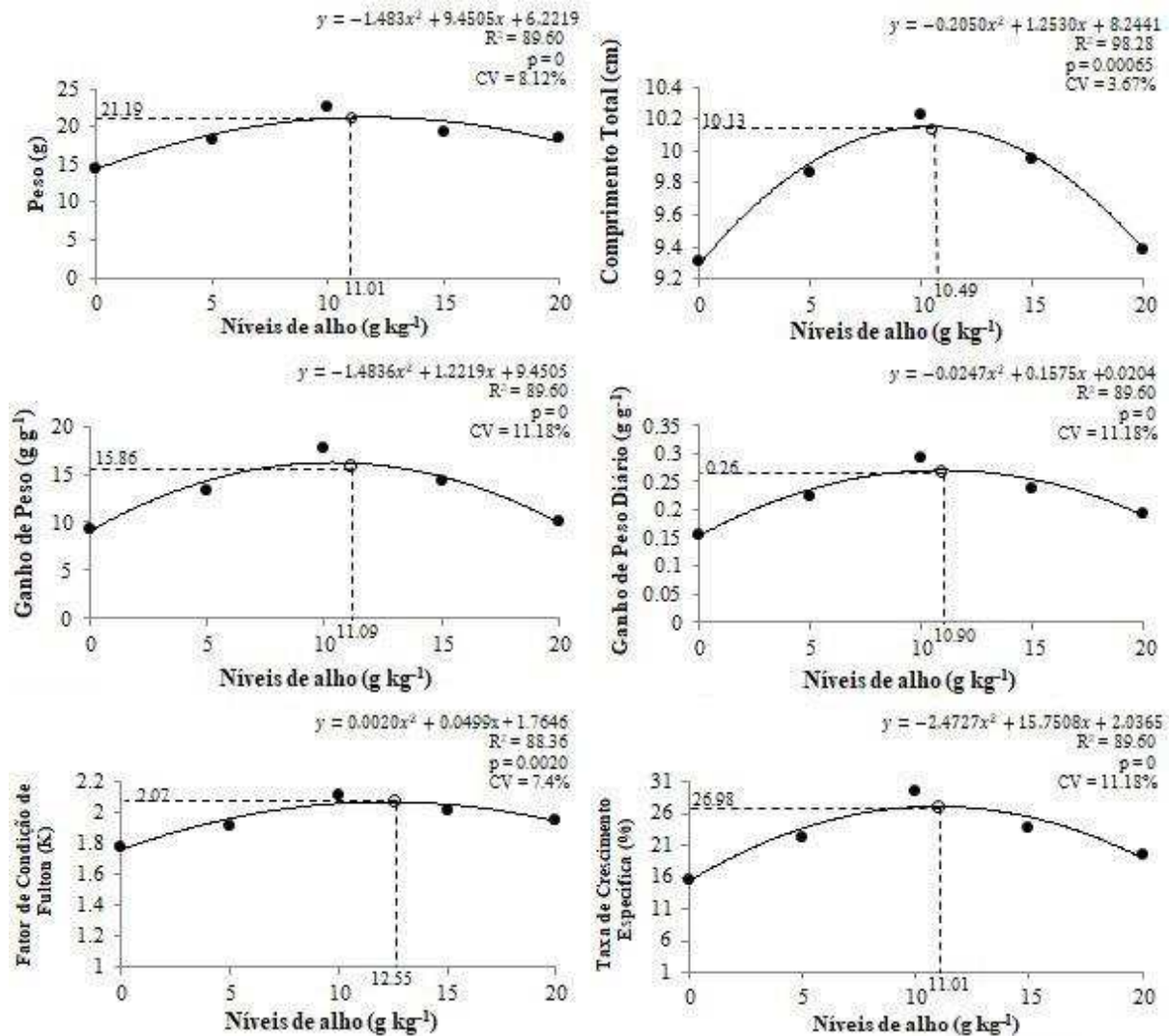


Figura 2. Variação do peso, comprimento total, ganho de peso, ganho de peso diário, fator de condição de Fulton (K) e da taxa de crescimento específico (TCE) de juvenis de tilápia do Nilo em função da concentração de alho em pó acrescido na dieta, durante 60 dias de cultivo. Valores médios submetidos a ANOVA e regressão ($p < 0,05$).

Os valores estimados das sobrevivências dos juvenis foram inicialmente crescentes até atingirem o número máximo de sobrevivência de 85,76% com a suplementação de 9,52g kg⁻¹ de alho na dieta, da sobrevivência pós o estresse salino com ponto máximo de 101,18% com a adição de 10,08 g kg⁻¹ de alho e para a sobrevivência após o estresse agudo de exposição ao ar, atingindo o ponto máximo em 105,06% com suplementação de 11,26 g kg⁻¹ de alho em pó na dieta, a partir do qual decaíram (Figura 3).

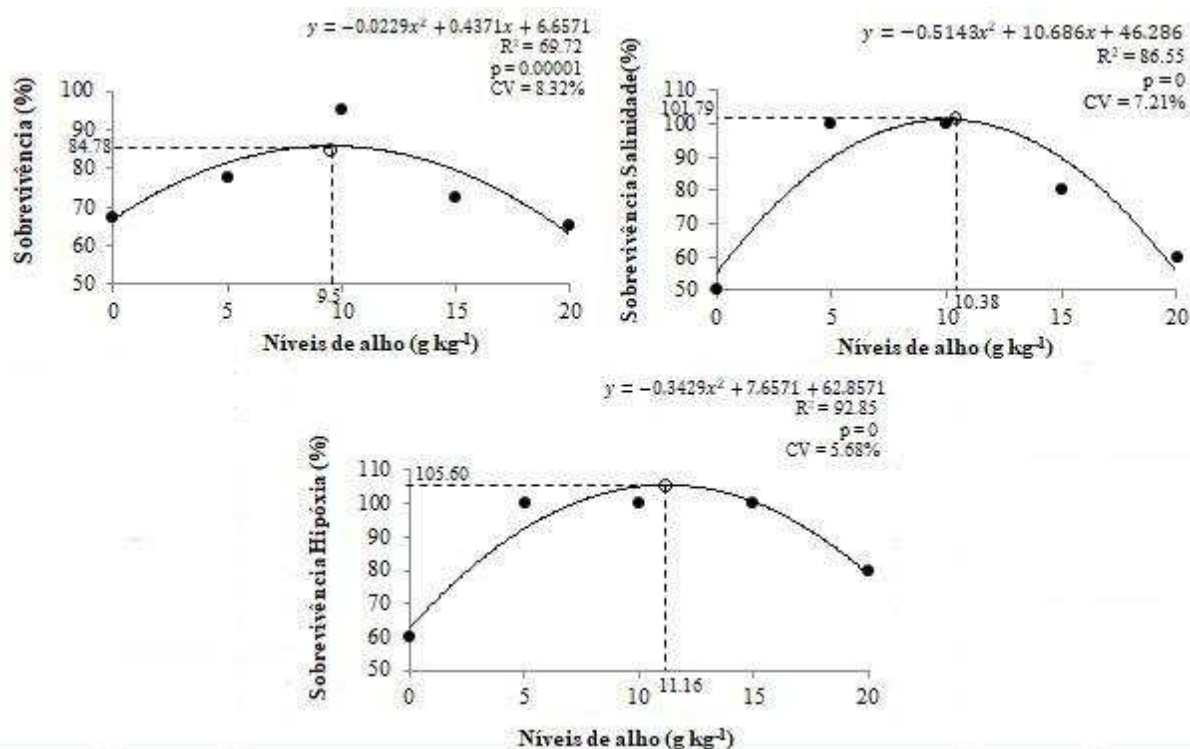


Figura 3. Variação das sobrevivências, ao término do experimento, após estresse salino e após exposição ao ar de juvenis de tilápia do Nilo em função da concentração de alho em pó acrescido na dieta ofertada por 60 dias. Valores médios submetidos a ANOVA e regressão ($p < 0,05$).

Os parâmetros sanguíneos, glicose, taxa de hemoglobina (tHb), volume globular (VG) e linfócitos dos peixes alimentados com a dieta controle e suplementados com os diferentes níveis de alho desidratado em pó, não apresentaram tendência de diminuir ou aumentar em função do aumento da concentração de extrato de alho na dieta ($p > 0.05$) (Tabela 7).

Tabela 7. Médias, desvios padrão, coeficientes de variação (CV) e p-valor dos parâmetros hematológicos de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de alho em pó por 60 dias.

Níveis (g kg ⁻¹)	Glicose (mg dL ⁻¹)	tHb (g dL ⁻¹)	VG (%)	Linfócitos (%)
0	71,25±18,24	7,65 ± 1,35	30,0 ± 7,07	53,05 ± 3,43
5	71,25±24,21	6,17 ± 1,18	22,25 ± 2,75	50,40 ± 2,09
10	71,75±11,32	8,47 ± 1,52	27,25 ± 6,89	50,21 ± 0,82
15	69,75±17,21	6,21 ± 2,36	30,25 ± 2,62	51,42 ± 2,09
20	72,25±6,94	7,90 ± 1,20	24,75 ± 3,09	51,54 ± 1,55
CV(%)	23,42	21,82	18,34	33,13
p-valor	0,9996	0,2018	0,156	0,1162

O número de eritrócitos totais aumentou com os níveis de alho até o ponto máximo de $8,17 \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$ com adição de $10,71 \text{ g kg}^{-1}$ de alho na dieta (Figura 4). O número total de leucócitos também cresceu atingindo o ponto máximo de $1,23 \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$ com a inclusão de $10,62 \text{ g kg}^{-1}$ de alho em pó na dieta ($p < 0,05$).

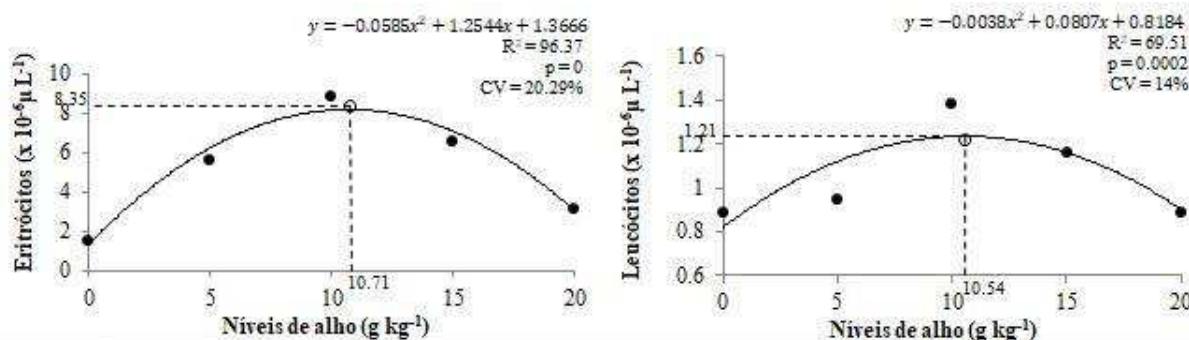


Figura 4. Variação de eritrócitos e leucócitos eritrócitos de juvenis de tilápia, em função do acréscimo de alho na dieta, após 60 dias de cultivo. Valores médios submetidos a ANOVA e REGRESSÃO ($p < 0,05$)

Na contagem diferencial de leucócitos foram observados efeitos quadráticos com ponto máximo de 3,36% para eosinófilos (Figura 5) e ponto mínimo de 1,19% de neutrófilos com adição de $6,44$ e $11,91 \text{ g kg}^{-1}$ de alho em pó, respectivamente, na dieta dos juvenis ($p < 0,05$). Os basófilos e monócitos também sofreram efeito quadrático como pontos máximos de 45,72 e 1,88% respectivamente.

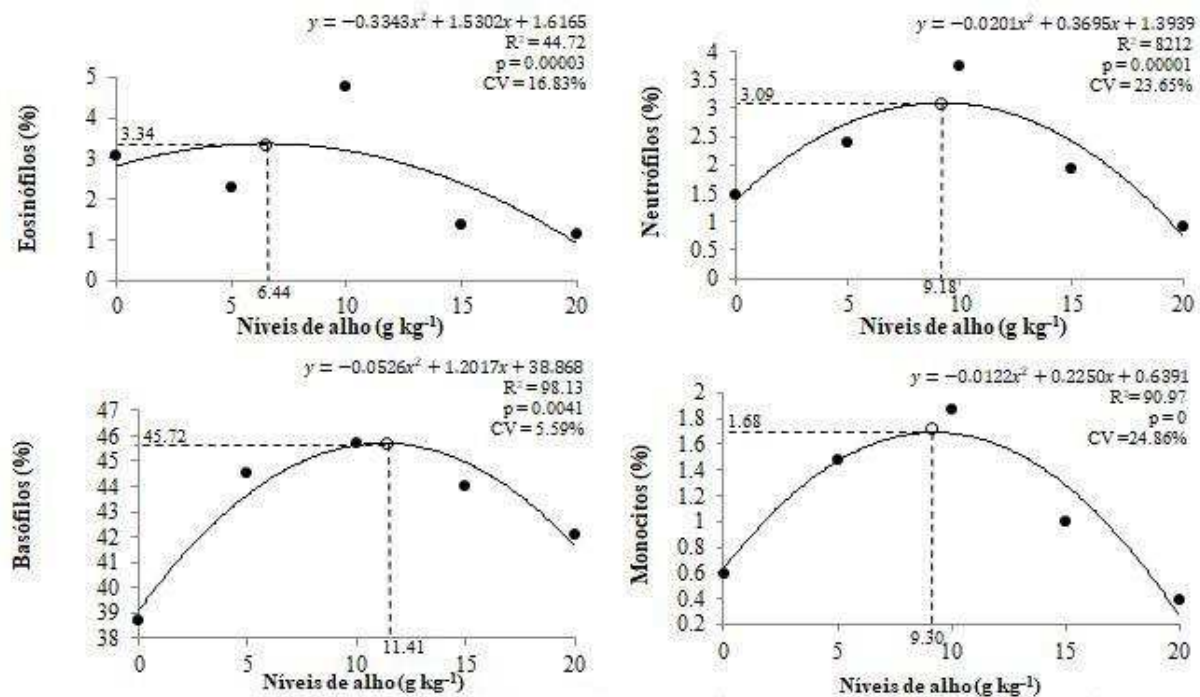


Figura 5. Variação das porcentagens de eosinófilos, neutrófilos, basófilos e monócitos de juvenis de tilápia do Nilo em função da concentração de alho em pó acrescido na dieta, durante 60 dias de cultivo. Valores médios submetidos a ANOVA e regressão ($p < 0.05$).

Os juvenis alimentados com a dieta sem adição de alho em pó apresentaram altura de vilosidade intestinal classificada como pequena com altura média de 248,69mcp, e os animais alimentados com as demais rações (5, 10, 15 e 20 g kg⁻¹), apresentaram vilosidades com altura classificada como média (487,36; 485,76; 435,65; 413,89, respectivamente, não diferindo entre si (Figura 6).

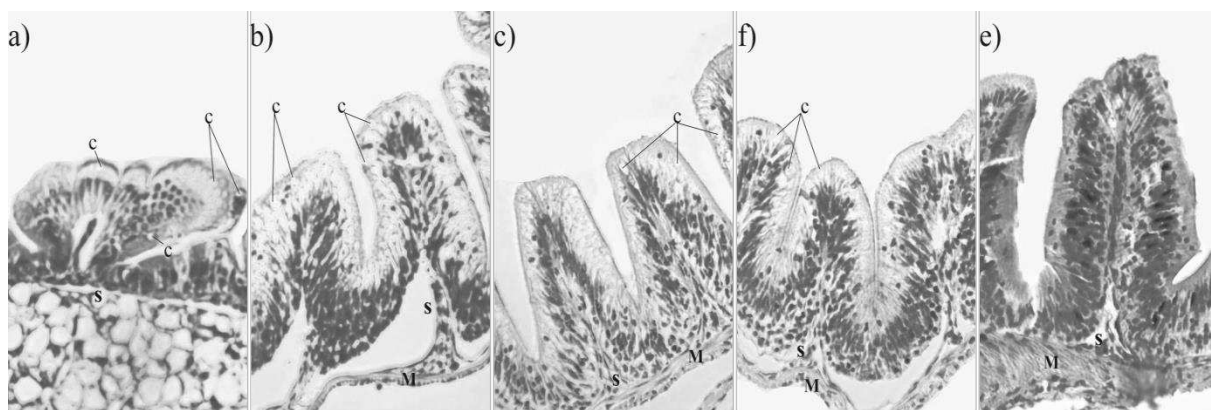


Figura 6. Fotomicrografias do intestino anterior de juvenis de tilápia do Nilo, demonstrando a vilosidade intestinal, células caliciformes (C), submucosa (S) e túnica muscular (M) PAS/H 400x. As vilosidades foram classificadas como a) pequena b) média, c) média, d) média e e) média, quando os juvenis foram alimentados com dieta com inclusão de 0, 5, 10, 15 e 20 g kg⁻¹ de alho em pó, respectivamente.

5.4 Discussão

A temperatura utilizada durante esse experimento foi mantida abaixo do intervalo de temperatura ótimo para a espécie apresentado por Mercante et al. (2011), Leonardo et al. (2014) afim de, simular o período de inverno.

A atividade metabólica da tilápia do Nilo está diretamente relacionada à temperatura do ambiente em que se encontra, sendo a temperatura ideal de 24 a 28°C (ABDEL-TAWWAB e WAFEEK, 2017). Ela afeta o crescimento, a composição de ácidos graxos do corpo (EL-WAHAB et al., 2020), atividade enzimática da amilase (MOURA et al., 2007) e as variáveis hematológicas (ABDEL-TAWWAB & WAFEEK, 2017), dentre outras características. Portanto, a não diferenciação entre os parâmetros comprimento padrão, biomassa e conversão alimentar, podem estar relacionadas ao menor crescimento proporcionado pela baixa temperatura em que os animais foram criados, sugerindo que temperaturas mais elevadas poderiam gerar diferença em alguns desses parâmetros.

Níveis ideais de inclusão do alho na dieta, podem melhorar a palatabilidade da dieta, estimulando um maior consumo de dieta, conseqüentemente o desempenho dos peixes pode ser melhor expressado (LEE e GAO, 2012). O alho apresenta propriedades antimicrobianas que auxiliam no crescimento do animal, propiciando uma melhor absorção de nutrientes (KHALIL et al., 2001), aumentando a atividade das enzimas digestivas, como a amilase, lipase e protease, melhorando a saúde em geral (FEREIDOUNI et al., 2015) e resistência a infecções (MILITZ et al., 2013; MOTLAGH et al., 2020). Os valores de desempenho, os parâmetros peso, comprimento total, ganho de peso, ganho de peso diário, fator de condição de Fulton e a taxa de crescimento específica foram crescentes até a inclusão próxima a 10 g kg⁻¹ na dieta, permitindo que os juvenis expressassem da melhor forma seu desenvolvimento, a partir desse ponto os valores passaram a decair, demonstrando um possível efeito tóxico aos peixes ou uma modificação negativa no paladar da dieta (SILVA et al., 2012).

Similarmente, esse efeito decréscimo inicial com subsequente queda a partir de um determinado nível de inclusão do alho também foi observada para juvenis do bagre africano *C. gariepinus* (0, 10, 15 e 20 g kg⁻¹), para os parâmetros de ganho de peso e peso final (ponto máximo em 18,8 g kg⁻¹), taxa de eficiência alimentar (18,5 g kg⁻¹), taxa de crescimento específico e taxa diária de crescimento (20,0 g kg⁻¹), tendência não observada para o fator de condição (GABRIEL et al., 2019).

Robalos *Dicentrarchus labrax* alimentados com diferentes níveis de alho (10, 20 e 30 g kg⁻¹), passaram a ter seu peso, ganho de peso, ganho de peso em porcentagem, taxa de crescimento específica e taxa de eficiência proteica maiores do que a dos animais alimentados

sem alho a partir das respectivas concentrações, 20, 20, 20, 10 e 10 g kg⁻¹, não apresentando decréscimo nos níveis superiores (SALEH et al., 2015).

A adição de alho mostrou-se favorável para o crescimento da tilápia, contudo, resultados contrários podem ser encontrados (NWABUEZE, 2012; SANSOM, 2019; Xu et al., 2019). Essas diferenças podem ser explicadas, pois os níveis de adição dos promotores de crescimento na dieta sofrem interferência principalmente da espécie que está recebendo a suplementação e seu estágio de desenvolvimento (FRECCIA et al., 2014; YILMAZ et al., 2015). A melhor utilização da dieta, com maior crescimento ocasionado pela inclusão do alho na dieta, tem efeito dose dependente, sendo possível observar resultados baixos em dosagens altas de inclusão (GABRIEL et al., 2019). Também se deve considerar o sabor característico do alho, que pode melhorar a palatabilidade da dieta até determinado nível de adição, e em doses muito altas podem proporcionar um sabor muito forte, diminuindo a palatabilidade e o consumo (ALY et al., 2008).

Os parâmetros comprimento padrão e biomassa não apresentaram tendência com o aumento da concentração de alho em pó assim como a conversão alimentar, que apresentou piores valores se comparados aos considerados ótimos para juvenis de tilápia (0,9 a 1,2 kg kg⁻¹) (KUBITZA, 2006) ou mesmo quando comparados com condições consideradas medianas para cultivo de juvenis de tilápia de tamanhos variados (7,3 g; 1,37 a 1,65 kg kg⁻¹) (RAMPE et al., 2014), e (20 g; 3,21 a 2,36 kg kg⁻¹) (METWALLY et al. 2009). O alto valor observado pode ser explicado pela menor temperatura que proporciona a piora da conversão alimentar (MOURA et al., 2007 e JUN et al., 2011). Já a não diferença entre as conversões alimentares são compatíveis com os trabalhos realizados com juvenis de carpa indiana *Labeo rohita* (10 g) (SAHU et al., 2007) e com juvenis (8 g) do bagre africano *Clarias gariepinus* (THANIKACHALAM et al., 2010), onde a inclusão do alho na dieta, mesmo melhorando as condições imunológicas das espécies, não acarretou em diferenças entre as taxas de conversão alimentar.

As similaridades dos comprimentos corporais deste experimento com tilápia tem respaldo nos trabalhos com tilápias vermelhas *Oreochromis* sp. (SAMSON, 2019) que apresentaram comprimentos semelhantes quando alimentados com rações com e sem adição de alho.

As repostas variadas podem ser explicadas pelas diferenças na concentração do alho, como mostram os trabalhos acima. A variação ainda pode ocorrer em função da forma em que o alho é adicionado (METWALLY 2009, THANIKACHALAM et al., 2010), das condições a qual ele foi estocado (LEE & GAO, 2012). Portanto, devido a diversos fatores que interferem

na ação promotora dos aditivos alimentares naturais os estudos ainda apresentam controvérsias (CAMPAGNOLO et al., 2013; FRECCIA et al., 2014). Entretanto, neste experimento com juvenis de tilápia, o conjunto dos dados evidencia a capacidade do alho em melhorar as condições do peixe, até o nível de inclusão 10 g kg^{-1} do alho em pó na dieta.

O efeito positivo da adição do alho pode ser constatado também no aumento das vilosidades do trato digestório dos juvenis da tilápia do Nilo deste experimento, o que corrobora com o aumento dos demais parâmetros de crescimento.

Além dos compostos oligosulfurados, a alicina, o alho também possui polissacarídeos (KOCH e LAWSON, 1996). Os polissacarídeos são prebióticos que promovem o desenvolvimento da microbiota gastrointestinal benéfica (SONG et al., 2014) além de auxiliar a microbiota, polissacarídeos podem melhorar a morfologia intestinal, como observado por Zahran et al. (2014) após ofertarem polissacarídeo de *Astragalus* para tilápias do Nilo.

No presente estudo, o alho auxiliou o crescimento das vilosidades da parte anterior no intestino dos juvenis, sendo classificadas como vilosidades médias, enquanto o grupo que não foi suplementado apresentou vilosidades classificadas como pequenas (Figura 6). O crescimento das vilosidades, assim como o aumento em seu número e do número de vacúolos, favorece a absorção de nutrientes da dieta (CHENG et al., 2011). Ainda são escassos trabalhos que relatam a ação do alho sobre a morfologia intestinal de peixes. Entretanto, Büyükdeveci et al. (2018) observaram alterações na microbiota intestinal de trutas arco-íris, e descreveram que esses indícios podem estar relacionados com alterações morfológicas, levando a uma melhora na absorção dos nutrientes presentes na dieta, o que foi confirmado por esse experimento com juvenis de tilápia do Nilo.

Pode ser observado um aumento na sobrevivência dos juvenis alimentados com até 10 g kg^{-1} de alho após 60 dias, a partir de então a sobrevivência foi reduzida conforme o aumento da inclusão de alho na dieta.

O principal componente bioativo presente no alho é a alicina (HOSSEINI e HOSSEINZADEH, 2015), que possui propriedades antibacteriana (MARCHESE et al., 2016), imunoestimulantes (NYA et al., 2010) e antioxidantes (CHAN et al., 2016). Essas propriedades agem positivamente sobre a sobrevivência e desenvolvimento dos peixes.

Similarmente ao encontrado neste experimento, a sobrevivência da tilápia vermelha *Oreochromis* sp. se eleva até 60% com o acréscimo de 15 g kg^{-1} de alho na dieta, a partir de quando apresenta a tendência de queda (SAMSON, 2019). O efeito positivo do alho na sobrevivência também pode ser verificado em juvenis de tilápia zillii (*Coptodon zillii*) (AJIBOYE e QARI, 2016), de carpa comum (*Cyprinus carpio*) (KARIMI PASHAKI et al.,

2020), de perca gigante (*L. calcarifer*) (TALPUR & IKHWANUDDIN, 2012) e de robalo *D. labrax* (SALEH et al., 2015), que tiveram suas sobrevivências aumentadas quando alimentadas com dieta acrescida de alho em pó.

Durante as duas simulações de estresse agudo por água salinizada, e exposição ao ar, foram observados comportamentos semelhantes, onde a sobrevivência se apresentou crescente nos níveis próximos a 10 g kg⁻¹.

A propriedade imunoestimulante (NYA et al., 2010; AWAD e AWWAD, 2017), antioxidante (LEE & GAO, 2012) e a capacidade de elevar a concentração corpuscular de hemoglobina (SHALABY et al. 2006), presentes no alho, permite uma maior resistência a períodos estressantes, o que possibilita uma maior taxa de sobrevivência dos peixes após a exposição ao estresse.

Após suplementação com alho cru, juvenis do bagre africano (*C. gariepinus*) foram desafiados e submetidos a um ambiente com baixo pH, após o desafio a probabilidade de sobrevivência permaneceu crescente até a inclusão de 20 g kg⁻¹, a partir de quando decaiu, onde os animais que não foram suplementados apresentaram a menor taxa de sobrevivência (GABRIEL et al., 2019). Exemplares de truta (*Salmo caspius*) alimentadas com dietas contendo alho em pó (0, 10, 20 e 30 g kg⁻¹) durante 06 semanas, foram desafiados a infecção por *Yersinia ruckeri* e, após 14 dias de infecção, a sobrevivência foi maior para os grupos que receberam a suplementação em relação ao controle, os quais apresentaram 100% de mortalidade no sexto dia de infecção, enquanto que entre os grupos suplementados, os que receberam 30 g kg⁻¹ de alho apresentaram a maior sobrevivência (80%) (ZAEFARIAN et al., 2017). Juvenis de carpa comum (*C. carpio*) receberam suplementação com alho em pó (0, 5, 10 e 15 g kg⁻¹) por 35 dias e após esse período foram expostas a 0,5 mg L⁻¹ de nitrogênio amoniacal, considerada uma concentração tóxica para a espécie por 03 horas (YOUSEFI et al., 2020). Os autores encontraram que os níveis de 10 e 15 g kg⁻¹ suavizaram os efeitos da amônia tóxica (YOUSEFI et al., 2020).

Uma forma de analisar a saúde dos juvenis é a avaliação dos parâmetros hematológicos. A elevação da contagem de leucócitos (glóbulos brancos) associada ao aumento da porcentagem de eosinófilos, neutrófilos, basófilos e monócitos, constata a ação anti-infecciosa do alho, após 60 dias de suplementação, para os juvenis de tilápia deste experimento. O decréscimo dos valores nas concentrações mais elevadas de alho (15 e 20 g kg⁻¹) pode ser decorrente de elevados níveis terem efeito tóxico (LEE & GAO, 2012) ou pela queda do consumo devido ao sabor e odor do alho na dieta (ALY et al., 2008). O aumento de células sanguíneas até um determinado limite de inclusão de alho na dieta, com consequente

queda após este nível também foi descrito para glóbulos vermelhos, volume de células concentradas e hemoglobina em *C. gariepinus* (ONOMU, 2019) e para neutrófilos, basófilos e trombócitos em *L. calcarifer* (TALPUR & IKHWANUDDIN, 2012). Essa queda corrobora com a ideia de que doses elevadas de alho podem prejudicar o desempenho e saúde dos peixes.

A contagem de eritrócitos (glóbulos vermelhos) e leucócitos (glóbulos brancos) foram crescentes em relação ao aumento da concentração de alho até 10 g kg⁻¹, passando a decair a partir de então. A inclusão do alho na dieta eleva a taxa de atividade imunológica, alterando os parâmetros sanguíneos dos peixes (NYA e AUSTIN, 2009). O aumento de células vermelhas pode indicar efeito imunoestimulante (SAHU, 2004; SHALABY et al., 2006). Já os leucócitos são as principais células de defesa do organismo e, durante uma infecção, seus números são aumentados (TALPUR e IKHWANUDDIN, 2012), como observado em animais que consomem alho, vegetal que tem propriedades anti-infecciosas (IRANLOYE, 2002).

Elevados valores de glóbulos vermelhos e brancos em tilápia demonstram o efeito imunoestimulante do alho na alimentação (NAQI et al., 2019). Os trabalhos com juvenis de tilápia tem demonstrado que a inclusão do alho na dieta aumenta os parâmetros hematológicos, dentre eles os glóbulos vermelhos (hemoglobina, hematócrito) e brancos (neutrófilos) (ALY e MOHAMED, 2010, NAQI et al., 2019).

Resultados similares foram encontrados em bagre africano onde verificou-se um aumento na contagem de células vermelhas e brancas conforme aumentava a concentração de casca de alho na dieta (TANIKACHALAM et al., 2010) e de células vermelhas (hematócrito, hemoglobina) e plaquetas com o aumento do extrato de alho (GABRIEL et al., 2019). De fato, o acréscimo de alho tende a aumentar os componentes do sangue como os glóbulos brancos e vermelhos (hemoglobina) além da proteína plasmática (NWABUEZE et al., 2012), volume de células concentradas (ONOMU, 2019) e proteína sérica, albumina e globulina de *C. gariepinus* (TANIKACHALAM et al., 2010). Esse aumento também é observado em outras espécies para os glóbulos vermelhos (hematócrito, hemoglobina), leucócitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos, linfócitos, atividade fagocítica), e trombócitos em robalos asiáticos (TALPUR e IKHWANUDDIN, 2012) e glóbulos brancos (linfócitos) em carpas *C. carpio*, (KARIMI PASHAKI et al., 2020). No entanto, a adição de alho pode não apresentar efeito em leucócitos totais, eosinófilos, basófilos e monócitos da tilápia do Nilo (ALY e MOHAMED, 2010) e no total de células vermelhas, hematócrito, neutrófilo eosinófilo monócito da carpa (KARIMI PASHAKI et al., 2020).

Nesse experimento as variáveis sanguíneas, glicose, taxa de hemoglobina, volume globular e linfócitos não demonstraram tendência crescente ou decrescente entre os níveis de inclusão do alho na dieta. Corroborando com o observado, juvenis de diversas espécies dentre elas a tilápia do Nilo alimentadas com dieta aditivada com alho, também não proporcionaram diferença dos linfócitos totais (ALY e MOHAMED, 2010, GABRIEL et al., 2019), e na hemoglobina (TALPUR e IKHWANUDDIN, 2012, GABRIEL et al., 2019, KARIMI PASHAKI et al., 2020).

Por fim, os maiores valores encontrados para os parâmetros de crescimento, sobrevivência, morfologia do trato digestório e hematológico dos animais alimentados dieta aditivada demonstram o quanto o alho (10 g kg^{-1}) melhora a criação dos juvenis da tilápia do Nilo.

5.5 Conclusão

A concentração de 10 g kg^{-1} de alho, mesmo em temperaturas baixas, melhora o desempenho zootécnico, exerce propriedades imunoestimulantes e anti-infecciosas e altera benéficamente a morfologia intestinal de juvenis de tilápia do Nilo.

5.6 Referências

- Abdel-Tawwab, M., Wafeek, M., 2017. Fluctuations in water temperature affected waterborne cadmium toxicity: Hematology, anaerobic glucose pathway, and oxidative stress status of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, 477, 106-111. doi:10.1016/j.aquaculture.2017.05.007
- Ajiboye, O. O., Qari, R., 2016. Short-term Evaluation of Graded Levels of Dietary Garlic Powder (*Allium sativum* L.) as Growth Promoter on Growth, Survival and Feed Utilization of Redbelly Tilapia, *Tilapia zillii* Reared in Glass Aquaria Tanks. *International Journal of Marine Science* 6, 1-7. doi:10.5376/ijms.2016.06.0034
- Aly, S. A., & Mohamed, M. F. (2010). Echinacea purpurea and Allium sativum as immunostimulants in fish culture using Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94(5), e31-e39. Doi:10.1111/j.1439-0396.2009.00971.x
- Aly, S. M., Abdel-Atti, M., Mohamed, M. F., 2008. Effect of Garlic on the Survival, Growth, Resistance and Quality of *Oreochromis niloticus*. *International Symposium on Tilapia in Aquaculture* 8, 277-295.
- Awad, E., Awaad, A., 2017. Role of Medicinal Plants on Growth Performance and Immune Status in fish. *Fish Shellfish Immunology* 67, 40-54. doi: 10.1016/j.fsi.2017.05.034
- Block, E., 1992. The Organosulfur Chemistry of the Genus *Allium* – Implications for the Organicchemistry of Sulfur. *Angewandte Chemie International Edition*. 31, 1135 – 1178.
- Büyükdeveci, M. E., Balcázar, J. L., Demirkale, I., Dikel, S., 2018. Effects of Garlic-Supplemented Diet on Growth Performance and Intestinal Microbiota of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 486, 170-174. doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.12.022
- Campagnolo, R., Freccia, A., Bergmann, R. R., Meurer, F., Combardelli, R. A., 2013. Óleos Essenciais na Alimentação de Alevinos de Tilápia do Nilo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 13, 565-573. doi: 10.1590/S1519-99402013000300020
- Chakraborty, S. B., Hancz, C., 2011. Application of Phytochemicals as Immunostimulant, Antipathogenic and Antistress Agents in Fish Culture Reviews in *Aquaculture*. 3, 103-119. doi: 10.1111/j.1753-5131.2011.01048.x
- Chan, J. Y. Y., Yuen, A. C.Y., Chan, R. Y. K., Chan, S. W., 2013. Uma Revisão dos Benefícios Cardiovasculares e Propriedades Antioxidantes da Alicina Phytotherapy Research. 27, 637-646. doi: 10.1002/ptr.4796

- Cheng, Z.Y., Buentello, A., Gatlin Iii, D.M., 2011. Dietary Nucleotides Influence Immune Responses and Intestinal Morphology of Red Drum *Sciaenops ocellatus*. *Fish and Shellfish Immunology* 30, 143–147. doi: 10.1016/j.fsi.2010.09.019
- Collier, H.B., 1944. Standardization of Blood Haemoglobin Determinations. *Canadian Medical Association Journal* 50, 550-552.
- Diab, A. S., Aly, S. M., John, G., Abde-Hadi, T., Mohammed, M. F., 2008 Effect of Garlic, Black Seed and Biogen as Immunostimulants on the Growth and Survival of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae), and Their Response to Artificial Infection with *Pseudomonas fluorescens*. *African Journal of Aquatic Science*, 33, 63-68. doi: 10.2989/AJAS.2007.33.1.7.391
- Dikel, S. 2015. Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Büyüme Artırıcı Olarak Sarımsak (*Allium sativum*) Kullanımı. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi* 3, 529-536. doi: 10.24925/turjaf.v3i7.529-536.356
- El-Wahab, A. A., Visscher, C., Teitge, F., Steinhagen, D., 2020. Choice preference of diets with different protein levels depending on water temperature in Nile tilapia. *Journal of the World Aquaculture Society*, 51, 512-526. doi: 10.1111/jwas.12651
- FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. doi: 10.4060/ca9229en
- Felicitta, J., Manju, R. A., Ronald, J., Sakthika, T., Nagarajan, R., Chelladurai, G., 2013. Effect of Different Concentrations Garlic (*Allium sativum*) and Onion (*Allium cepa*) on Growth, Survival, and Hematology of Juvenile Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*. 65, 1-5.
- Fereidouni, M. S., Akbary, P., & Soltanian, S. 2015. Survival rate and biochemical parameters in Mugil cephalus (Linnaeus, 1758) larvae fed garlic (*Allium sativum* L.) extract. *American Journal of Molecular Biology*, 5, 7. 10.4236/ajmb.2015.51002
- Freccia, A., Sousa, S. M. N., Meurer, F., Butzge, A. J., Mewes, J. K., Bombardelli, R. A., 2014. Essential Oils in the Initial Phase of Broodstock Diets of Nile Tilapia. *Revista Brasileira de Zootecnia* 43, 1-7. doi: 10.1590/S1516-35982014000100001
- Gabriel N. N., Wilhelm, M. R., Habte-Tsion, H-M., Cimwamurombe, P., Omoregie, E., 2019. Dietary Garlic (*Allium sativum*) Crude Polysaccharides Supplementation on Growth, Haematological Parameters, Whole Body Composition and Survival at Low Water pH challenge in African catfish (*Clarias gariepinus*) Juveniles. *Scientific African* 5 e00128. doi: 10.1016/j.sciaf.2019.e00128

- Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall, E., Brosius, E., 1971. Reproducibility in the Hematology Laboratory: the Microhematocrit Determination. *American Journal of Clinical Pathology* 56, 5-39. doi: 10.1093/ajcp/56.1.35
- Gomes, V. D. S., Silva, J. H. V., Cavalcanti, C. R., Filho, J. J., Almeida, J. L., Amâncio, A. L. L., Lucena, C. E. A. 2018. Avanços do Uso de Enzimas na Nutrição de Tilápias. *Visão Acadêmica*, 19, 113-129. doi:10.5380/acd.v19i1.57380
- Hosseini, A., Hosseinzadeh, H., 2015. Uma Revisão Sobre os Efeitos do *Allium sativum* (Alho) no Metabolismo Metabólico. *Síndrome, Journal of Endocrinological Investigation* 38, 1147-1157. doi: 10.1007/s40618-015-0313-8
- Iranloye, B. O., 2002. Effect of Chronic Garlic Feeding on Some Haematological Parameters. *African Journal Biomedicine Research* 5, 81-82.
- Jun, Q., Pao, X., Haizhen, W., Ruiwei, L., Hui, W. 2012. Combined effect of temperature, salinity and density on the growth and feed utilization of Nile tilapia juveniles (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Research*, 43, 1344-1356. doi: 10.1111/j.1365-2109.2011.02938.x
- Karimi Pashaki, A., Ghasemi, M., Zorriehzahra, M. J., Shrif Rohani, M., Hosseini, S. M. 2020. Effects of dietary garlic (*Allium sativum*) extract on survival rate, blood and immune parameters changes and disease resistance of Common carp (*Cyprinus carpio carpio* Linnaeus, 1758) against Spring Viremia of Carp (SVC). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19, 1024-1039. doi: 10.1016/j.lwt.2018.02.030
- Khalil, R. H., Nadia, B. M., Soliman, M. K., 2001. Effects of Biogen and Levamisole Hcl on the Immune Response of Cultured *Oreochromis niloticus* to *Aeromonas hydrophila* Vaccine. *Beni-Suef of Veterinary Medical Journal* 11 381-392.
- Koch, H. P., Lawson, L. D., 1996. Garlic: The Science and Therapeutic Application of *Allium Sativum* L. and Related Species, ed.2, Williams and Wilkins, Baltimore, USA, 329 p.
- Kohlmunzer S. Pharmacognosy, 1993. PZWL, Warszawa (in Polish).
- Kopec, A., Piatkowska, E., Leszczynska, T., Sikora, E., 2013. Healthy Properties of Garlic. *Current Nutrition & Food Science*. 9, 59-64. doi: 10.2174/157340113804810888
- Kubitza, F., 2006. Ajustes na Nutrição e Alimentação das Tilápias. *Revista Panorama Da Aquicultura* ed.98, 14p.
- Lee, J. Y., Gao, Y., 2012. Review of the Application of Garlic, *Allium sativum*, in Aquaculture. 43, 447-458. doi: 10.1111/j.1749-7345.2012.00581.x
- Leonardo, A. F., Côrrea, C. F., Baccarin, A. E., 2014. Avaliação Limnológica na Criação de Tilápias em Tanques-rede no Vale do Ribeira, Estado de São Paulo. *Acta of Fisheries and Aquatic Resources* 2, 82-92. doi:10.2312/ActaFish.2014.2.1.82-92

- Lima, K. S., Cipriano, F. S., Oliveira-Júnior, F. M., Tonini, W. C T., Souza, R. H. B., Simões, I. G. P. C., Braga, L. G. T., 2015. Performance and Hematological Variables of Piavuçu Whose Diets Were Supplemented with Phytobiotic and Probiotic Additives. *Semina: Ciências Agrárias* 36, 2881-2892. doi: 10.5433/1679-0359.2015v36n4p2881
- Mahmoud, H. K., El-Hais, A., 2017. Effect Of Dietary Garlic (*Allium sativum*) Supplementation On Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* Juveniles Performance Under Two Stocking Denisties. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 20, 115-124. doi: 10.21608/ejnf.2017.75140
- Marchese, A., Barbieri, R., Sanches-Silva, A., Daglia, M., Nabavi, S. F., Jafari, N. J., Izadi, M., Ajami, M., Nabavi, S. M., 2016. Atividades Antifúngica e Antibacteriana da Aicina: uma Revisão *Trends in Food Science and Technology*. 52, 49–56. doi: 10.1016/j.tifs.2016.03.010
- Mehrim, A. I., Khalil, F. F. Refaey, M. M., 2014. Evaluation of Dietary Addition of Garlic (*Allium sativum*) Lobes on Growth Performance, Feed Utilization, and Physiological Responses of *Oreochromis niloticus*), Fingerlings. *Abbassa International Journal of Aquaculture* 7, 342-361.
- Mercante, C. T. J., do Carmo, C. F., Rodrigues, C. J., Osti, J. A. S., Mainardes Pinto, C. S., Vaz-dos-Santos, A. M., Tucci, A., Di Genaro, A. C. (2018). Limnologia de Viveiro de Criação de Tilápias do Nilo: Avaliação Diurna Visando Boas Práticas de Manejo. *Boletim do Instituto de Pesca*, 37, 73-84.
- Metwally., M. A. A., 2009. Effects of Garlic (*Alluim sativum*) on Some Antioxidant Activities in Tilapia Nilotica (*Oreochromis niloticus*). *World Journal of Fish and Marine Sciences* 1, 56-64.
- Militiz, T. A., Southgate, P. C., Carton, A. G., Hutson, K. S., 2013. Dietary Supplementation of Garlic (*Allium sativum*) to Prevent Monogenean Infection in Aquaculture. *Aquaculture* 408-409, 95-99. doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.05.027
- Moraes, F. F.P., Silva, N. L., Coelho Dias, D., Veiga M.D. M., Salaro, A. L., Freitas, D., Sampaio Zuanon, J. A., 2014. Essential Oregano Oil as a Growth Promoter for the Yellowtail Tetra, *Astyanax altiparanae*. *Journal of the World Aquaculture Society* 45, 28-34. doi: 10.1111/jwas.12094
- Motlagh, H. A., Safari, O., Selahvarzi, Y., Baghalian, A., Kia, E., 2020. Non-specific Immunity Promotion in Response to Garlic Extract Supplemented Diets in Female Guppy (*Poecilia reticulata*). *Fish and Shellfish Immunology* 97, 96-99. doi: 10.1016/j.fsi.2019.12.007

- Moura, G. D., Oliveira, M. G. A., Lanna, E. A. T., Maciel-Júnior, A., Maciel, C. M. R. R., 2007. Performance and Amylase Actyvity in Nile Tilapia Submitted to Different Tempetarures. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42, 1609-1615. doi: 10.1590/S0100-204X2007001100013
- Naqi, J. A., Mateen, A., Hussain, D., Tahir, H. M., Hussain, S., Tabassum, A., 2019. Effect of *Allium sativum* Supplemented Doets on Growth and Haematological Response in Nile Tilapia (*Oreochromis niluticus*) *Pakistan Journal of Zoology* 51, 257-263. doi: 10.17582/journal.pjz/2019.51.1.257.263
- Nwabueze, A. A. 2012. The effect of garlic (*Allium sativum*) on growth and haematological parameters of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Sustainable Agriculture Research*, 1(526-2016-37830).
- Nya, E. J., Austin, B., 2009. Use of Garlic, *Allium sativum*, to Control *Aeromonas hydrophila* Infection in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*. 32, 963-970. doi:10.1111/j.1365-2761.2009.01100.x
- Nya, E.J.; Dawood, Z.; Austin, B., 2010. The Garlic Component, Allicin Prevents Disease Caused by *Aeromonas hydrophilain* Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases* 33.293-30. doi:10.1111/j.1365-2761.2009.01121.x
- Official Methods of Analysis of AOAC International. Rockville, MD: AOAC International, ISBN: 978-0-935584-87-5
- Onomu, A. J. 2019. Growth and Haematological Response of *Clarias gariepinus* to Garlic (*Allium sativum*) Supplemented Diet. *Sustainable Agriculture Research*, 8(526-2020-508), 67-73.
- Oz, M., 2018. Effects of Garlic (*Allium sativum*) Supplemented Fish Diet on Sensory, Chemical and Microbiological Properties of Raibow Trout During Storage at -18°C. *Food Science and Technology* 92, 155-160. doi: 10.1016/j.lwt.2018.02.030
- PEIXE, BR. (2020). Anuário Brasileiro da Piscicultura PEIXE BR 2020. *São Paulo: Associação Brasileira da Piscicultura*. 135 p.
- Rampe, M.C.C.; Pacheco, M.L.; Vargas Júnior, J.G.; Giannotti, J.D.G.; Demuner, L.F.; Marin, J.F.V. 2014. Adição de lisina digestível em rações experimentais para juvenis de tilápia-do-nilo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 66, 1557-1566. Doi:10.1590/1678-5729
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., Sasa, P., 2014. Use of Plant Extracts in Fish Aquaculture as na Alternative to Chemotherapy: Current Status and Future Perspectives. *Aquaculture* 433, 50-61. doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.05.048

- Rodrigues, R. B., Meurer, F., Silva, D. M., Uczay, M., Boscolo, W. R., 2015. Tecnologia de Bioflocos no Cultivo de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Acta Tecnológica 10, 75-89. doi:10.1590/S1519-99402015000400018
- Sahu, S. 2004. Antibacterial Activity of Plant Extracts on Fish Microbial Pathogens. MSc. Diss., CIFA, Kausalyaganga, Bhubaneswar, 237 pp.
- Sahu, S., Das, B.K., Mishra, B.K., Pradhan, J., Sarangi, N., 2007. Efeito de *Allium sativum* Sobre a Imunidade e Sobrevivência de *Labeo rohita* Infectado com *Aeromonas hydrophila*. Journal of Applied Ichthyology 23, 80-86. doi: 10.1111/j.1439-0426.2006.00785.x
- Saleh, N. E., Michael, F. R., Toutou, M. M., 2015. Evaluation of Garlic and Onion Powder as Phyto-additives in the Diet of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). Egyptian Journal of Aquatic Research 41, 211-217. doi: 10.1016/j.ejar.2015.03.008
- Samson, J. S., 2019. Effect of Garlic (*Allium sativum*) Supplementes Diets on Growth, Feed Utilization and Survival of Red Tilapia (*Oreochromis* sp.). International Journal of Agricultural Technolohy 15, 637-644. doi: 10.5539/jas.v4n2p269
- Santhosha, S.G., Prakash, Jamuna, Prabhavathi, S.N., 2013. Bioactive Components of Garlic and Their Physiological Role in Health Maintenance: a Review. Food Bioscience 3, 59-74.
- Shalaby, A.M., Khattab, Y.A., Abdel Rahman, A.M., 2006. Effects of Garlic (*Allium sativum*) and Chloramphenicol on Growth Performance, Physiological Parameters and Survival of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal Venomous Animals and Toxins 12, 172–201. doi:10.1590/S1678-91992006000200003
- Shukla, Y., Kalra, N., 2007. Cancer Chemoprevention with Garlic and its Constituents. Cancer Lett 247, 167-81. doi: 10.1016/j.canlet.2006.05.009
- Silva, E. F. B., Froés, C. N., Souza, D. M., Soares, R., Peixoto, S., Wasielesky, W., Ballester, E. L. C., 2012. Uso de Probióticos na Produção de Pós-larvas de Camarão-rosa. Pesquisa Agropecuária Brasileira 47, 869-874. doi: 10.1590/S0100-204X2012000600019
- Silva, E. T L., Pedreira, M.M., Dias, M. L. F., Tessitore, A. J. A., Ferreira, T. A. 2017. Larvas de linhagens de tilápia do Nilo submetidas à frequências alimentares sob baixa temperatura. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal 18, 193-203. doi: 10.1590/S1519-99402017000100018
- Song, S. K.; Beck, B. R.; Kim, D.; Park, J.; Kim, J.; Kim, H. D.; Ringo, E. 2014. Prebiotics as Immunostimulants in Aquaculture: a Review, Fish and Shellfish Immunology 40, 40–48.
- Syahidah, A., Daud, H. M., Abdelhadi, Y. M., 2015. Status and Potential of Herbal Applications in Aquaculture: a Review. Iranian Journal of Fisheries Sciences 14, 27-44.

- Talpur A. D., 2014. *Mentha piperita* (Peppermint) as Feed Additive Enhanced Growth Performance, Survival, Immune Response and Disease Resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) Against *Vibrio harveyi* Infection. Aquaculture 420-421, 71- 78. doi:10.1016/j.aquaculture.2012.07.035
- Talpur, A. D., Ikhwanuddin, M., 2012. Dietary Effectss of Garlic (*Allium sativum*) on Haemato-immunological Parameters, Survival, Growth, and Disease Resistance Against *Vibrio harveyi* Infection in Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch). Aquaculture 364-365, 6-12. doi:10.1016/j.aquaculture.2012.07.035
- Thanikachalam, K., Kasi, M., Rathinam, X., 2010. Effect of Garlic on Growth, Hematological Parameters and Disease Resistance Against *Aeromonas hydrophila* in African catfish *Clarias gariepinus* (Bloch) Fingerlings. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 614-618. doi:10.1016/S1995-7645(10)60149-6
- Vicente, I.S.T. e Fonseca-Alves, C.E., 2013. Impact of Introduced Nile Tilapia (*Oerochromis niloticus*) on Non-native Aquatic Ecosystems. Pakistan Journal of Biological Sciences 16, 121-126. doi:10.3923/pjbs.2013.121.126
- Vidal, L. V. O., Albinat, R. C. B., Albinati, A. C. L., Lira, A. D., Almeida, T. R., Santos, G, B., 2008. Eugenol como Anestésico para Tilápia do Nilo. Pesquisa Agropecuária Brasileira 43, 1069-1074. doi:10.1590/S0100-204X2008000800017
- Williamson, E.M., 2003. Drug Interactions Between Herbal and Prescription Medicines. Drug Saf 26, 1075-1092.
- Xu, A., Shang-Guan, J., Li, Z., Gao, Z., Huang, Y., Chen, Q., 2020. Effects of Garlic Powder on Feeding Attraction Activity, Growth and Digestive Enzyme Activities of Japanese Seabass, *Lateolabrax japonicas*. Aquaculture Nutrition 0, 1-10. doi:10.1111/anu.13001
- Yilmaz, E., Ergün, S., Yilmaz, S., 2015. Influence of Carvacrol on the Growth Performance, Hematological, Non-specific Immune and Serum Biochemistry Parameters in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Food and Nutrition Sciences 6, 523-531. doi:10.4236/fns.2015.65054
- Yilmaz, S., Ergün, S., Soytaş, N., 2013. Dietary Supplementation of Cumin (*Cuminum cyminum*) Preventing Streptococcal Disease During First-feeding of Mozambique Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Japanese journal of medical science and biology. 2, 117-124.
- Yousefi, M., Vatnikov, Y. A., Kulikov, E. V., Plushikov, V. G., Drukovsky, S. G., Hoseinifar, S. H., Doan, H. V., 2020. The Protective Effects of Dietary Garlic on Common Carp (*Cyprinus carpio*) Exposed to Ambient Ammonia Toxicity. Aquaculture 526, 735400 doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735400

Zaefarian, A., Yeganeh, S., Adhami, B., 2017. Dietary Effects of Garlic Powder (*Allium sativum*) on Growth, Blood Indices, Carcass Composition, and Lysozyme Activity in Brown Trout (*Salmo caspius*) and Resistance Against *Yersinia ruckeri* Infection. *Aquaculture International* 25, 1-10. doi:10.1007/s10499-017-0169-3

Zahran, E., Risha, E., AbdelHamid, F., Mahgoub, H. A., Ibrahim, T., 2014. Effects of Dietary *Astragalus* Polysaccharides (APS) on Growth Performance, Immunological Parameters, Digestive Enzymes, and Intestinal Morphology of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Fish and Shellfish Immunology* 38, 149–157.

